

Institut für Molekulare Mechanismen bei Krankheiten
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet et phil. II Michael Hottiger

Musculoskeletal Research Unit (MSRU)
Leiterin: Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS

Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von
Dr. med. vet. Karina Klein, DVM-PhD

Die Etablierung des Kaninchens als Tiermodell für Kniegelenkendoprothesen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Isabel Heckel

Tierärztin
aus Bad Windsheim, Deutschland

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Referentin

Prof. Dr. Stephen J. Ferguson, Korreferent

2019

Institut für Molekulare Mechanismen bei Krankheiten
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet et phil. II Michael Hottiger

Musculoskeletal Research Unit (MSRU)
Leiterin: Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS

Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von
Dr. med. vet. Karina Klein, DVM-PhD

Die Etablierung des Kaninchens als Tiermodell für Kniegelenkendoprothesen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Isabel Heckel

Tierärztin
aus Bad Windsheim, Deutschland

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Referentin

Prof. Dr. Stephen J. Ferguson, Korreferent

2019

Meiner Familie
– Im Besonderen meinem Opa Friedrich Heckel –

In Liebe und Dankbarkeit

1	Zusammenfassung	1
2	Summary	2
3	Einleitung	3
3.1	Hintergrund	3
3.2	Geschichte der Endoprothetik mit Fokus auf Metall-auf-Metall Prothesen.....	3
3.3	Material	6
3.3.1	Vorteile von Metall/Metall Gleitpaarung	6
3.3.2	Nachteile von Metall/Metall Gleitpaarung	6
3.3.3	Materialoptimierung für Prothesen	7
3.3.4	Zukünftig gewünschte Verbesserungen	7
3.3.5	Aktuelle Forschung	7
3.4	Die Wahl eines Tiermodells	7
3.4.1	Tiermodelle für Endoprothesen	8
3.4.2	Das Kaninchen als Tiermodell	8
3.5	Problemstellung	9
3.6	Zielsetzung	10
4	Material und Methoden	11
4.1	Aufbau der Studie	11
4.2	Versuchstiere und Tiermanagement	13
4.2.1	Akklimatisation	13
4.2.2	Parasitologische Untersuchungen	13
4.3	Materialien und Fertigung der Prothesen	13
4.3.1	Materialien der Prothesen	13
4.3.2	Entwurf der Prothesen	14
4.3.3	Herstellung der Prothesen	15
4.3.4	Herstellung der Tibia- und Femur-Schneidlehre	17
4.4	Operation	18
4.4.1	Prä- und Perioperatives Management	18
4.4.2	Operationsablauf	19
4.4.3	Postoperatives Management	21

4.5	Blutentnahmen, Röntgenaufnahmen und Fluoreszenzinjektionen	22
4.5.1	Blutentnahmen	22
4.5.2	Röntgenaufnahmen	22
4.5.3	Fluoreszenz Injektionen	23
4.6	Euthanasie	23
4.7	Probengewinnung und -aufbereitung	24
4.7.1	Entnahme und Aufbereitung der regionalen Lymphknoten.....	24
4.7.2	Präparation intakter Kniegelenke für den Versand nach Leeds	24
4.7.3	Präparation und Aufbereitung der restlichen Kniegelenke	26
4.8	Histologische Probenauswertung	28
4.8.1	Inguinale und popliteale Lymphknoten	28
4.8.2	Synovialmembranen	29
4.8.3	Fluoreszenz	30
4.8.4	Toluidinblau gefärbte Dickschnitte.....	31
<hr/>		
5	Resultate.....	32
5.1	Versuchstiere.....	32
5.1.1	Akklimatisation	32
5.1.2	Parasitologische Untersuchungen	32
5.2	Operation.....	33
5.2.1	Anästhesie Vorversuch	33
5.2.2	Anästhesie Hauptversuch	33
5.2.3	Operationsablauf Vorversuch	33
5.2.4	Operationsablauf Hauptversuch	34
5.2.5	Postoperative Phase Vorversuch	36
5.2.6	Postoperative Phase Hauptversuch	36
5.3	Lahmheitsdiagnostik	40
5.4	Blutentnahmen, Röntgenaufnahmen und Fluoreszenzinjektionen	42
5.4.1	Blutentnahmen	42
5.4.2	Röntgenaufnahmen	42
5.4.3	Fluoreszenz Injektionen	42
5.5	Euthanasie	43
5.6	Probengewinnung, Fixation und Aufbereitung der gewonnenen Gewebeproben	43

5.6.1	Entnahme und makroskopische Beurteilung der Lymphknoten	43
5.6.2	Entnahme intakter Kniegelenke für den Versand nach Leeds und makroskopische Bewertung	44
5.6.3	Entnahme der restlichen Kniegelenke und makroskopische Bewertung	46
5.6.4	Probenaufbereitung	52
5.7	Histologische Auswertung	52
5.7.1	Popliteale und inguinale Lymphknoten	52
5.7.2	Synovialmembranen	54
5.7.3	Fluoreszenzschnitte	55
5.7.4	Toluidinblau gefärbte Dickschnitte	55
5.8	Zusammenfassung der Resultate	56
<hr/>		
6	Diskussion	58
6.1	Ziel der Studie	58
6.2	Tiermodell	59
6.3	Anästhesie	60
6.4	Operation und postoperative Phase	61
6.4.1	Operationen	61
6.4.2	Postoperative Phase Vor- und Hauptversuch	62
6.4.3	Lahmheitsdiagnostik	63
6.5	Makroskopische Auswertung	63
6.6	Probenentnahme und -aufbereitung	64
6.7	Histologische Auswertung	65
6.8	Schlussfolgerung und Perspektiven	66
<hr/>		
7	Literaturverzeichnis	68
<hr/>		
8	Abkürzungsverzeichnis	74
<hr/>		
9	Anhang	76
9.1	Tabellen	76
9.2	Abbildungen	78

Danksagung

Curriculum Vitae

1 Zusammenfassung

Reproduzierbare Tiermodelle werden benötigt, um neue Materialien und Beschichtungen für Endoprothesen zu testen. In dieser Studie wurde eine Knieprothese am Kaninchen auf ihre Eignung im Tiermodell untersucht und eine standardisierte Operationstechnik mit Schneidlehren entwickelt.

Die OP-Technik wurde an insgesamt 35 Kaninchen getestet.

Nach Absetzen der Femurkondylen und des Tibiaplateaus wurde die Prothese mit Knochenzement im Markraum verankert. Der Rehabilitationsprozess der Tiere wurde über 12 Wochen beobachtet. Nach der Euthanasie der Tiere wurden beide Knie entnommen, Gewebeproben aufbereitet und histologisch untersucht. Reaktionen des umliegenden Weichteilgewebes wurden makroskopisch und histologisch untersucht. Im Rahmen der Biokompatibilitätsprüfung wurde die Quantität von Abriebpartikeln ermittelt.

Die Schneidlehren ermöglichten durch standardisierte Schnittführung ein gutes, reproduzierbares OP-Ergebnis. Bei 28 Kaninchen heilte die Prothese im beobachteten Zeitraum gut ein, 5 Kaninchen mussten wegen Erkrankungen die nicht mit der Prothese in Verbindung standen, 2 weitere wegen OP-bedingten Komplikationen, vorzeitig eingeschläfert werden.

Die Methoden der Probengewinnung und -evaluierung gewährleisteten eine standardisierte Analyse der Proben. Zelluläre Reaktionen waren bei allen Tieren zu finden.

Insgesamt erwies sich das Tiermodell als gut geeignet und bietet eine exzellente Grundlage für den Test neuer Materialien und Beschichtungen für Prothesen.

Stichworte: Kniegelenkendoprothese, Metall auf Metall, Tiermodell, Kaninchen, Abriebpartikel

2 Summary

Reproducible animal models are warranted for *in vivo* experiments to investigate developments for new materials and coatings used for endoprostheses.

Therefore, a for rabbits customized stifle prosthesis was developed and the surgical technique was established using aiming devices for good standardization.

The surgical technique was tested in a total of 35 rabbits.

After removal of femoral condyles and tibia plateau, the prosthesis stem was anchored in the bone marrow cavity using bone cement. The animals were observed during a 12-week rehabilitation process. After sacrifice, both knees were harvested, tissue samples were prepared and histologically examined. Reactions of surrounding soft tissue were macroscopically and histologically evaluated. For biocompatibility testing, the quantity of wear particles was determined additionally.

The aiming devices ensured standardized preparation of the joint followed by reproducible prosthesis implantations. In a total of 28 rabbits the prosthesis was well tolerated and integrated well over the observed time period. 5 Rabbits had to be euthanized prematurely due to complications unrelated to the experiment, 2 rabbits because of complications related to the experiment.

The harvesting and evaluative methods assured a standardized analysis of all samples. Cellular responses were found in all animals.

In summary the animal model proved to be suitable and provides an excellent basis for testing of new coatings and materials for endoprostheses.

Keywords: knee prosthesis, metal on metal, animal model, rabbit, wear particles

3 Einleitung

3.1 Hintergrund

Hüftprothesen als Gelenkersatz bei degenerativen Veränderungen des Gelenkknorpels gehören heute zum Standard der Endoprothetik. Die demographische Umstrukturierung der Gesellschaft bezüglich des Alters, welche schon seit Jahrzehnten stattfindet, wird in Zukunft weiter anhalten. Das bedeutet, dass immer weniger Geburtenzahlen immer weniger Sterbefällen entgegenstehen. Dadurch steigt das Durchschnittsalter der Bevölkerung. Dies lässt sich beispielsweise in Deutschland und Australien, aber auch im Hinblick auf die gesamte Weltbevölkerung anhand von Datensammlungen und Prognosen nachweisen und abschätzen. Zusätzlich dazu steigt die Lebenserwartung des Menschen kontinuierlich. Gründe sind u.a. der medizinische Fortschritt, humanere Arbeitsbedingungen, bessere Hygienestandards und eine verbesserte soziale Fürsorge^{1,4}. Mit einer stetig steigenden Lebenserwartung des Menschen lässt sich auch ein steigender Bedarf an künstlichem Gelenkersatz - sogenannten Endoprothesen - beobachten⁵. Die Endoprothetik hat zu einer erheblichen Verbesserung der Lebensqualität Betroffener geführt. Das wird v.a. klar, wenn man sich vor Augen führt, dass eine chirurgische Behandlung von beispielsweise Hüftpathologien bis ins späte 18. Jahrhundert die Amputation der betroffenen Gliedmasse bedeutete. Dieser Eingriff war zur damaligen Zeit die einzig bekannte Möglichkeit, eine Schmerzreduktion herbeizuführen⁶.

3.2 Geschichte der Endoprothetik mit Fokus auf Metall-auf-Metall Prothesen

Die ersten Endoprothesen waren Hüftprothesen. Dies rührt daher, dass das Hüftgelenk als ein zentrales und bedeutendes Gelenk im Hinblick auf die Mobilität des Individuums gilt. Einer der ersten dokumentierten Fälle ist die Implantation einer Metall-auf-Metall Prothese im Jahre 1938. Durchgeführt wurde die Operation von Philip Wiles, das verwendete Metall war Stahl⁷. 1956-1960 waren es G.K. McKee und J. Watson-Farrer, die moderneren Zeiten der Endoprothetik einleiteten. Sie setzten die ersten Hüft-Totalendoprothesen ein, wieder aus der Sparte Metall-auf-Metall (Metall/Metall). Der zunächst verwendete rostfreie Stahl musste nach wenigen Monaten einer Kobalt-Chrom-Molybdän-Legierung (CoCrMo) weichen⁸. Jedoch waren die Ergebnisse mit beiden Materialien nicht zufriedenstellend und noch bevor man die Schwachstellen und

Gründe für das Versagen der Prothesen finden konnte, gewann ein neuartiges Endoprothesen-Konzept, von John Charnley, an Popularität¹. Das Versagen der Metall/Metall Prothese von McKee war bedingt durch das Aufeinanderreiben der metallischen Prothesenelemente. Dies wiederum führte zur Lockerung der Prothesen und Hypersensitivitätsreaktionen des umliegenden Gewebes auf Metallabrieb, die sogenannte „adverse reaction to metal debris“ (ARMD). Zusätzliche Hinweise auf eine mögliche Kanzerogenität der Abriebstoffe festigten das Negativbild². Das neuartige Konzept stammte 1958 von John Charnley. Er verwendete, ebenso wie McKee, Metall für den Femurkopf (erst rostfreien Stahl, später CoCrMo), für die Hüftpfanne jedoch Teflon. Das Teflon erwies sich in weiterer Folge als nicht geeignet und wurde ab 1962 durch Polyethylen (PE) ersetzt (=MoP = Metall auf Polyethylen). Eine weitere Neuerung die durch Charnley initiiert wurde, war die Verwendung von Acrylzement zur Verankerung der Prothesenteile im Knochen, und die Wahl eines kleineren Durchmessers des Femurkopfes, um das von ihm propagierte Modell der „geringen Reibung“ zu erzielen³. Da in der vorliegenden Arbeit der Fokus auf Metall/Metall Prothesen gesetzt wurde, wird das Hüftendoprothesenmodell von Charnley im Weiteren nicht detaillierter thematisiert. Eine wichtige Erkenntnis jedoch, die durch Charnley gewonnen werden konnte, war, dass das Versagen der Metall/Metall Prothesen nicht allein der Materialpaarung (Metall/Metall) zuzuschreiben war. Ein unvorteilhaftes Design der Implantate und technische Mängel, die sich in schlechten mechanischen Eigenschaften widerspiegeln, waren daran ebenso massgeblich beteiligt⁴. Die klinischen Resultate der „McKee-Farrar-Prothese“ und der „Charnley-Prothese“ sind retrospektiv betrachtet als gleichwertig einzustufen. Aus nicht belegten Gründen setzte sich das Modell von Charnley jedoch durch. In einer Studie von Jacobsson et. al. gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Prothesen hinsichtlich des Implantatversagens. Es war laut Datenauswertungen 20 Jahre nach dem Eingriff bei 23% (Prothesentyp McKee), bzw. bei 27% (Prothesentyp Charnley) der eingesetzten Prothesen zum Versagen durch Lockerung gekommen⁵. Heute ist allgemein akzeptiert, dass diese Lockerungen durch PE-/Teflon- oder metallischen Abrieb bedingt sind, die durch Reibung auf der jeweiligen Oberfläche des Implantats entsteht. Die abgeriebenen Partikel werden in Abhängigkeit von der Grösse entweder phagozytiert und über die Lymphe abtransportiert oder im Gewebe abgelagert und von Histiozyten und Riesenzellen umgeben. Daraus kann sich ein Fremdkörpergranulom entwickeln (=Fremdkörperreaktion) das in weiterer Folge dann zu Osteolysen und sogenannten

aseptischen Lockerungen führen kann¹³. Da PE weichere Material-Eigenschaften aufweist als Metall, kommt es bei diesem Material auch zu mehr Abriebpartikeln^{14,15}. Diese Erkenntnisse führten dazu, dass die Suche nach alternativen Materialien für Endoprothesen wieder aufgenommen wurde. Keramik wurde als neuer Werkstoff ab 1970 klinisch erprobt¹⁶, aber auch ein erneuter Anlauf mit einer dem Wissenstand angepassten, verbesserten Metall/Metall-Gleitpaarung wurde in den späten 1980er und frühen 1990er Jahren gemacht¹⁴. Die neuen Metall/Metall Kreationen waren vielversprechend. Die Neuerungen bestanden in der Verwendung eines grösseren Durchmessers des künstlichen Femurkopfes in Kombination mit härterem Metall, was die Quantität der Abriebpartikel vermindern sollte. Bis Anfang der 2000er Jahre wurden weltweit etwa eine Million dieser Prothesen implantiert¹⁷. Bedenken hinsichtlich eines signifikant erhöhten Revisions-Operationsaufkommens bei den neuesten Metall/Metall Paarungen im Vergleich zu anderen Materialpaarungen wurden durch eine Studie 2010 bestätigt¹⁸. Systemisch erhöhte Co und Cr - Ionenkonzentrationen bei Patienten mit Metall/Metall Prothesen, sind schon länger bekannt¹⁹, jedoch war deren biologische Relevanz unklar und die Problematik wurde wenig diskutiert. Dies änderte sich mit der Publikation von mehreren Studien zu diesem Thema seit 2010, welche die lokalen Komplikationen und die systemischen Risiken aufzeigten (Osteolyse, Nekrose, Pseudotumoren und Flüssigkeitsansammlungen im periprothetischen Bereich). Dem breiten Publikum wurde die Problematik wohl durch den Rückruf von Prothesen durch den Hersteller DePuy Orthopaedics (Warsaw, Indiana/Vereinigte Staaten von Amerika) im August 2010 bekannt. Den Rückrufaktionen schlossen sich weitere Firmen an²⁰. Verschiedene nationale Aufsichtsbehörden haben sich hinreichend mit der Thematik Metall/Metall-Prothesen auseinander gesetzt und entsprechende Warnungen und Empfehlungen zur Nachkontrolle entsprechender Patienten publiziert. Unter anderem die FDA (US- amerikanische Food and Drug Administration)²¹ und die britische Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency (MHRA, Dokument MDA/2012/036)²². Nebst den öffentlich-rechtlichen Einrichtungen haben sich auch nationale orthopädische Gesellschaften mit dem Thema beschäftigt und zusätzlich eigens erarbeitete Empfehlungen herausgegeben; darunter auch die Schweizerische Gesellschaft für Orthopädie und Traumatologie SGOT²³. Als erste nationale orthopädische Gesellschaft hat die holländische NOV im Januar des Jahres 2012 die Empfehlung herausgegeben, keine Metall/Metall-Gleitpaarungen mit einem Durchmesser $\geq 36\text{mm}$ mehr zu implantieren^{20,24}. Obwohl die Zahl implantierter

Metall/Metall-Prothesen erheblich zurückgegangen ist⁵, bleiben derzeit noch zahlreiche Implantate dieses Typs auf dem Markt. Die Attraktivität von Metall/Metall Gleitsystemen ist durch die grundsätzlich hohe Haltbarkeit der Materialien nach wie vor gegeben.

Zusammenfassend kann man sagen, dass das Forschungsinteresse bzgl. der (Weiter-) Entwicklung der Endoprothetik in den letzten Jahrzehnten sehr gross war. Die Tatsache, dass im deutschsprachigen Raum alleine für den Hüftersatz ca. 300 verschiedene Prothesensysteme existieren, lässt vermuten, dass eine ideale Endoprothese noch nicht gefunden wurde²⁵.

3.3 Material

3.3.1 Vorteile von Metall/Metall Gleitpaarung

Die Metall/Metall Gleitpaarung bei Endoprothesen findet nach wie vor in vielen Modellen Verwendung. Grund dafür ist, dass MoM (=Metall/Metall) den Gleitpaarungen Metall/Polyethylen (MoP) oder Metall/Keramik (MoC) hinsichtlich des volumetrischen Abriebs überlegen ist. Da grundsätzlich Metall von der Materialbeschaffenheit das Härteste der drei Materialien ist, werden weniger Abriebpartikel beim Aufeinanderreiben der Prothese generiert. Im Vergleich zu Keramik besteht bei Metall ausserdem ein geringeres Risiko von Materialbrüchen²⁶⁻²⁹.

3.3.2 Nachteile von Metall/Metall Gleitpaarung

Der Nachteil liegt im mechanisch-korrosiven Abrieb begründet, welcher zu erhöhten lokalen und systemischen Konzentrationen von Metallionen führt³⁰. Das Metall, das derzeit in der Medizin am meisten Verwendung findet, ist Kobalt-Chrom und die Abriebpartikel bestehen dementsprechend aus Kobalt- und Chrom-Ionen. Diese Elemente werden von dem Körper für eine normale biologische Funktion sogar benötigt, hohe Konzentrationen sind jedoch toxisch und können verschiedene biologische Abläufe behindern³¹⁻³³. Bei akkuratem Sitz der Prothese und ohne klinische Auffälligkeiten befinden sich die Ionenkonzentrationen normalerweise in einem erhöhten, aber unbedenklichen Bereich. Dies kann sich jedoch mit einer Lockerung der Prothese, oder durch andere Veränderungen am Sitz der Prothese, ändern³³. Die negativen Auswirkungen lokal erhöhter Abriebpartikelwerte (ARMD) beinhalten: Osteolyse, Nekrose, Pseudotumoren und Flüssigkeitsansammlungen im periprothetischen Bereich^{34,35}.

3.3.3 Materialoptimierung für Prothesen

Es wird auf langfristige Sicht gesehen eine neue Generation von Prothesen gesucht. Um aber überhaupt Prothesen und verschiedene Materialien testen zu können, bedarf es eines etablierten, standardisierten Tiermodells, an dem ein Materialtest vollzogen werden kann.

3.3.4 Zukünftig gewünschte Verbesserungen

Eine ideale Prothese, und somit die Materialien aus denen Sie besteht, sollte:

- bioinert
- widerstandsfähig
- langlebiger als herkömmliche Gleitpaarungen
- kosteneffektiv
- leicht zu Implantieren sein
- hervorragende Verschleissbeständigkeit aufweisen (= hoher Abriebswiderstand).

Es wird nach alternativen Materialien für Gleitpaarungen gesucht, die weniger Abrieb erzeugen und Abriebpartikel generieren, aber gleichzeitig eine erhöhte Materialfestigkeit aufweisen³⁶.

3.3.5 Aktuelle Forschung

Um Materialien zu finden, welche die gewünschten Eigenschaften erfüllen, gab es in den letzten Jahren extensive Bemühungen in der Forschung. Möglichkeiten, um zukünftige Gleitpaarungen zu entwickeln sind:

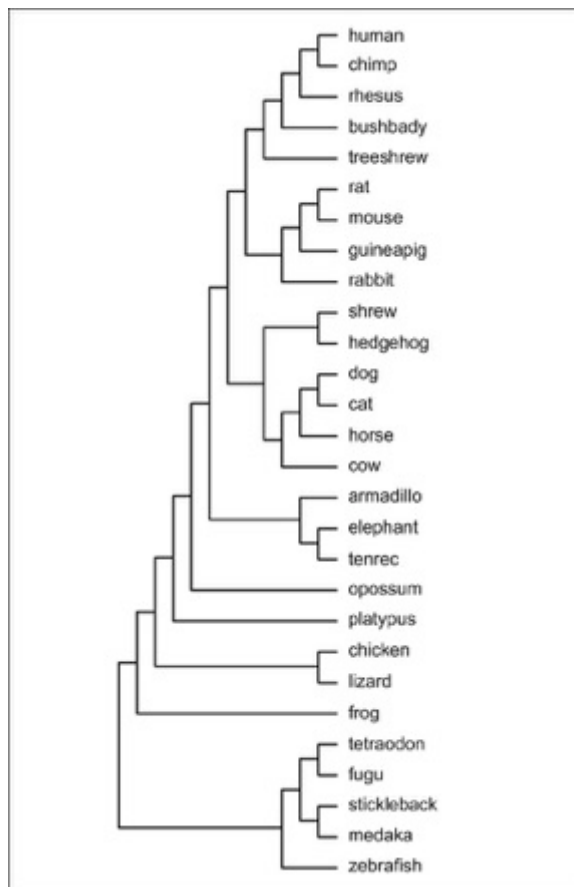
- Änderungen am bisherigen Implantatdesign
- Weiterentwicklung von Polyethylen³⁶
- Modifizierungen von Metalloberflächen (z.B. Beschichtungen)³⁶⁻³⁸
- Weiterentwicklung von Keramik
- Erforschung von gänzlich neuen, alternativen Materialien³⁶.

3.4 Die Wahl eines Tiermodells

Für den Test von Prothesen ist eine reine Kadaverstudie nicht zufriedenstellend. Dies liegt darin begründet, dass die wichtigsten Fragestellungen nur im lebenden Organismus beantwortet werden können, weil sich nur dort eventuelle Nebenwirkungen und Folgen (beispielsweise Metallose) manifestieren. Um ein geeignetes Tiermodell zu finden, sollte zunächst eruiert werden, welche Tiermodelle es schon zu dieser oder einer

ähnlichen Fragestellung gibt. Wenn es mehr als ein Modell gibt, ist man dazu angehalten, zumindest in einem ersten Versuch, das phylogenetisch am wenigsten entwickelte (siehe Abb. 3.1), auch preisgünstigste Tier zu wählen, welches in einer ausreichenden Anzahl verfügbar ist^{39,40}. Zu den am meisten verwendeten Spezies für Versuche heutzutage gehören Hunde und Kaninchen. Weniger häufig in Gebrauch aber dennoch gängig sind Ziegen, Schafe, Ratten, Mäuse, Schweine und Pferde⁴¹.

3.4.1 Tiermodelle für Endoprothesen



Die am meisten implantierten Endoprothesen in der Humanmedizin betreffen das Hüftgelenk, gefolgt von künstlichen Kniegelenken. Daher scheint es nachvollziehbar, dass sich die Forschung hauptsächlich auf diese beiden Gelenke konzentriert⁴². In der Literatur beschrieben findet man verschiedene Tiermodelle für Hüftendoprothesen: unter anderem Schafe⁴³, Ziegen⁴⁴, Minipigs⁴⁵, Hunde⁴⁶⁻⁴⁹ und auch Kaninchen⁵⁰. Tiermodelle für (Teil-) Knieersatz und sind sehr viel weniger verbreitet⁴¹, umfassen aber auch wieder einige der vorher genannten Spezies⁵¹⁻⁵⁴.

Abb. 3.1: Phylogenetische Systematik – von oben (phylogenetisch am höchsten entwickelt) nach unten (am geringsten entwickelt)

3.4.2 Das Kaninchen als Tiermodell

Das Kaninchen bringt im Vergleich zu grösseren und höher entwickelten Spezies den Vorteil mit sich, dass sich eine artgerechte Haltung einfacher realisieren lässt. Auch der kürzere Lebenszyklus, die preisgünstigen Haltungsbedingungen, eine einfache Händelbarkeit und das geduldige Wesen der Tiere sind sowohl im Hinblick auf den

ethischen, als auch auf den Tierschutz-Aspekt, ein relevantes Argument für die Verwendung des Kaninchens im Experiment⁵⁵.

3.4.2.1 Das Kaninchen als orthopädisches Tiermodell

Die Knochen von Kaninchen unterscheiden sich sowohl in Makro- als auch in Mikrostruktur erheblich von dem menschlichen Knochen^{56,57}. Während der erwachsene Mensch eine Sekundärknochenstruktur aufzuweisen hat, haben Kaninchen ein longitudinal vaskularisiertes Primärknochengerüst⁵⁸. Des Weiteren unterscheidet sich der Knochen des Kaninchens auch durch einen wesentlich schnelleren Knochenauf- und -umbau von dem des Menschen^{56,59-62}. Dennoch werden Kaninchen erfolgreich als Tiermodell für orthopädische Fragestellungen eingesetzt, vor allem im Rahmen von präklinischen Vorversuchen. In einem kaskadenartig aufgebautem System erfolgt nach einem erfolgreichen Test am Kaninchen der Implantatmaterialtest am grösseren Tiermodell (z.B. Schaf oder Hund)⁵⁵. Etablierte, in der Vergangenheit oft gebrauchte Kaninchenmodelle gibt es so zum Beispiel für Frakturheilung⁶³⁻⁶⁶ und Osteoarthritis⁶⁷⁻⁷⁸.

3.5 Problemstellung

Es gibt kein wirklich standardisiertes Tiermodell für Gelenkendoprothesen. Ausserdem ist bisher kein Material für Prothesen verfügbar, welches zuverlässig in jedem Falle eine lange Nutzungsdauer ermöglicht. Daher wird noch weitere Forschung in diesem Bereich vonnöten sein. Ein etabliertes, standardisiertes Tiermodell wäre hierbei der Grundstein für weiterführende Forschung auf diesem Gebiet und würde Vergleiche von verschiedenen Materialien untereinander ermöglichen.

3.6 Zielsetzung

Ziel dieser Studie war die Entwicklung eines Tiermodells für Gelenkendoprothesen. Dabei wurde ein Gelenk ausgewählt, welches relevant ist, bei dem sich der operative Zugang aber relativ unkompliziert, von der Achse her eindeutig und deswegen einfach standardisiert gestaltet. Dadurch erhält man dann reproduzierbare Ergebnisse, was für Studien von grosser Bedeutung ist. Da der chirurgische Hüftgelenkszugang im Allgemeinen zwar ebenfalls einfach ist, in der Ante- oder Retroversion aber deutlich schwieriger standardisiert werden kann, wurde die Entwicklung eines Kniegelenkendoprothesenmodells forciert. Zu der Entwicklung eines Tiermodells gehört im Vorfeld die Entwicklung von

- OP-Methode
- Anästhesie Protokoll
- Entwicklung und Produktion spezieller chirurgischer Hilfsmittel (Schneidlehren) für einen standardisierten Ablauf
- Entwicklung und Produktion von Prothesen nach der Erhebung von Messdaten eines Tieres durchschnittlicher Grösse und Gewichtes.

Vor den ersten in-life Operationen werden Kadaver-OP durchgeführt, um die Grundlage für eine reproduzierbare Operationsmethode zu schaffen.

Schon früher hatte sich das Kaninchen im Tiermodell bei der Implantation von Endoprothesen als Ersatz für grössere Knochendefekte nach Tumorresektionen am Femur als geeignet erwiesen. Implantation und Rehabilitation verliefen gut und komplikationsarm⁷⁹. In einer weiteren Studie wurde eine Tibiaprothese mit Gelenksbeteiligung eingesetzt, nachdem das vorhandene Tibiaplateau abgesetzt wurde⁸⁰. Dies war als Hemiarthroplastie des Kniegelenks ein unmittelbarer Vorreiter der vorliegenden Studie und zeigte auch die prinzipielle Eignung des Modells auf.

4 Material und Methoden

4.1 Aufbau der Studie

Für die vorliegende experimentelle Studie wurden 35 Kaninchen der Rasse New Zealand White Rabbit mit einem Durchschnittsalter von 216 Tagen \pm 83,8 Tage (142 - 523 Tage) und einem durchschnittlichen Körpergewicht von 3,58 kg \pm 0,40 kg (3,01 - 4,50 kg) verwendet. Die Tiere wurden in drei Gruppen eingeteilt:

- 1) Zehn Tiere mit Referenzimplantat (RI) + zwei Präliminärtiere (RI)
- 2) 13 Tiere mit Testimplantat 1 (TI 1) und
- 3) Zehn Tiere mit Testimplantat 2 (TI 2).

Die präliminären Tiere wurden im Folgenden nicht gesondert behandelt, sondern in die Berechnungen und Beobachtungen miteinbezogen. Da die Studie Teil eines mit EU-Geldern subventionierten Projektes (Projektnummer 310477, Akronym: LifeLongJoints) ist, an dem mehrere europäische Universitäten (u.a. die Universität Leeds, Grossbritannien), Krankenhäuser und Herstellerfirmen beteiligt sind, war eine gute Kooperation unabdingbar. Es galt die Vereinbarung, dass 3/9 Tiere pro Gruppe (33,3%) nach der Euthanasie per Kurier nach Leeds verschickt werden. Diese sollten dann von den dortigen Wissenschaftlern spezifischen Tests und Untersuchungen unterzogen werden, welche mit den Fragestellungen der vorliegenden Studie jedoch nichts gemein haben. Die Aufgabe der UZH war es, in Zusammenarbeit mit der ETH Zürich, ein Tiermodell zu entwickeln, welches Untersuchungen zur Generierung von Abriebpartikeln und deren Auswirkung auf umliegendes Gewebe möglich macht. Der jeweilige Zeitraum zwischen Operation der Tiere und deren Tötung belief sich auf zwölf Wochen.

Genehmigt wurde die Studie von der kantonalen Tierversuchs-kommission des Bundesamtes für Veterinärwesen, Veterinäramt Zürich (Bewilligungsnummer: ZH 273/14). Die Durchführung erfolgte gemäss der Gesetzgebung der Schweiz im Hinblick auf den Tierschutz (TSchG 455).

Den Versuchstieren wurde nach Entfernung der distalen Femurkondylen und des Tibiaplateaus eine Knievollprothese implantiert. Der Implantatschaft wurde für einen optimalen Halt mit Knochenzement im Markraum des Femurs-/ bzw. der Tibia befestigt. Um eine Standardisierung zu gewährleisten, erfolgte das Absetzen der Knochensegmente mit Hilfe einer extra hergestellten sowohl einer Femur- als auch einer Tibiaschneidlehre sowie einer oszillierenden Säge. Die erste Gruppe (RI) fungierte als

Material und Methoden

Kontrollgruppe und erhielt eine Prothese aus unbeschichtetem Kobalt-Chrom-Molybdän. Bei den anderen beiden Gruppen wurde Titan (TI1) und Kobalt-Chrom-Molybdän (TI2), je mit einer speziellen Beschichtung, verwendet. Dies wird in nachfolgender Tab. 4.1 dargestellt. Auf die Art der Beschichtung wird in der vorliegenden Studie nicht eingegangen, da diese Grundlage einer späteren Veröffentlichung sein soll, die sich derzeit noch in Arbeit befindet. Doch konnte die Operationstechnik in 35 Tieren validiert werden.

Gruppe	Material der Prothese	Funktion	Tiernummern	Überlebenszeit	Versand nach Leeds
Präliminär	Unbeschichtetes Kobalt-Chrom-Molybdän	Präliminärtiere	34.01	12 Wochen	-
			34.02	0 Tage	-
1	Unbeschichtetes Kobalt-Chrom-Molybdän	Kontrollgruppe Referenzimplantat	34.03	12 Wochen	x
			34.04	12 Wochen	x
			32.05	0 Tage	-
			34.06	12 Wochen	-
			34.07	12 Wochen	-
			34.08	12 Wochen	x
			34.09	12 Wochen	-
			34.10	12 Wochen	-
			34.11	12 Wochen	-
			34.12	12 Wochen	-
2	Beschichtetes Titan	Testimplantat 1	34.13	12 Wochen	x
			34.15	12 Wochen	-
			34.18	0 Tage	-
			34.19	0 Tage	-
			34.20	12 Wochen	-
			34.21	4 Wochen	-
			34.23	12 Wochen	x
			34.26	12 Wochen	x
			34.28	0 Tage	-
			34.29	12 Wochen	-
			34.31	12 Wochen	-
			34.34	12 Wochen	-
			34.35	12 Wochen	-
3	Beschichtetes Kobalt-Chrom-Molybdän	Testimplantat 2	34.14	12 Wochen	-
			34.16	2 Tage	-
			34.17	12 Wochen	-
			34.22	12 Wochen	x
			34.24	12 Wochen	x
			34.25	12 Wochen	-
			34.27	12 Wochen	x
			34.30	12 Wochen	-
			34.32	12 Wochen	-
			34.33	12 Wochen	-

Tab. 4.1: Übersicht der Gruppeneinteilung und eingesetzten Prothesen

4.2 Versuchstiere und Tiermanagement

Es wurden 35 Kaninchen für diese Studie verwendet, davon zwei Tiere im Vorversuch und 33 im Hauptversuch. Es handelte sich dabei um adulte, weibliche Kaninchen der Rasse New Zealand White. Während der gesamten Zeit ihres Aufenthaltes wurde der Gesundheitszustand der Tiere zweimal täglich überprüft und dokumentiert.

4.2.1 Akklimatisation

Die Tiere wurden für eine ausreichende Akklimatisierungsphase mindestens sieben Tage vor dem Operationstermin geliefert (Charles River Laboratories, Research Models and Services Germany GmbH, Sulzfeld, Deutschland). Alle Kaninchen wurden direkt nach der Ankunft einer Eingangsuntersuchung unterzogen. Da sie bereits mit gut sichtbar tätowierten Nummern in den Ohren geliefert wurden, konnte eine einwandfreie Zuordnung jedes einzelnen Tieres erfolgen. Wenn es keine Beanstandung des Gesundheitszustandes gab, wurden die Tiere gewogen und in Gruppen eingestallt. War eine Gruppenhaltung aufgrund mangelnden Sozialverhaltens nicht möglich, erhielten betreffende Tiere eine Einzelbox.

4.2.2 Parasitologische Untersuchungen

Im Studienzeitraum wurde nach Bedarf Sammelkot der Kaninchen, der über drei Tage gesammelt wurde, parasitologisch untersucht.

4.3 Materialien und Fertigung der Prothesen

4.3.1 Materialien der Prothesen

Grundsätzlich wurden sie Prothesen entweder aus Kobalt-Chrom-Molybdän oder Titan angefertigt, wobei nur die Cobalt-Chrom-Molybdän als unbeschichtete Implantate getestet wurden.

4.3.1.1 Kobalt-Chrom-Molybdän unbeschichtet

Bei Kobalt-Chrom-Molybdän-Implantatlegierung handelt es sich um die Carpenter-Güte MicroMelt® Biodur® Carpenter CCM® Alloy. Die DIN Kurzbezeichnung lautet CoCr28Mo. Hergestellt wird die Legierung durch Pulvermetallurgie, bei der Metallpulver von Legierungen unter thermischen Einflüssen (1075-1200°C) verdichtet und schliesslich zu Stangen gepresst wird. Das Rohmaterial wurde in Stäben zu je drei

Metern ausgeliefert (L. KLEIN SA, Biel, Schweiz). Die unbeschichtete Prothese galt in vorliegender Studie als Referenzimplantat.

4.3.1.2 Titan beschichtet

Das in dieser Studie verwendete Material „Titan“, ist näher betrachtet eigentlich eine Titanlegierung. Titanlegierungen werden nach US-amerikanischem Standard ASTM von Grad 1 bis Grad 35 eingeteilt. Lediglich bei Grad 1 bis 4 handelt es sich um Reintitan verschiedener Reinheitsgrade. Die Hauptlegierungselemente in vorliegender Studie sind Aluminium und Vanadium. So erklärt sich auch die DIN-Kurzbezeichnung TiAl6V4. Im Gegensatz zum Reintitan kann das Grad 5 Titan ausgehärtet werden und besitzt noch höhere mechanische Eigenschaften als Titan Grad 4. Geliefert wurde das Material, ebenso wie CoCrMo auch, in runden Stäben zu drei Metern (L. KLEIN SA, Biel, Schweiz). Aus dem Rohmaterial wurden dann die Prothesen erstellt. Diese erhielten in einem weiteren Fertigungsschritt eine Beschichtung und wurde so zum fertigen Testimplantat 1. Auf die Art der Beschichtung wird in der vorliegenden Arbeit nicht eingegangen, da diese Grundlage einer späteren Veröffentlichung sein soll.

4.3.1.3 Kobalt-Chrom-Molybdän mit Beschichtung

Hierbei handelt es sich um das gleiche, wie das unter Punkt 4.3.1.1 aufgeführte Material, jedoch wurde die gefertigte Prothese aus CoCrMo in einem weiteren Schritt noch mit einer Beschichtung versehen und fungierte so als Testimplantat 2. Auf die Art der Beschichtung wird in der vorliegenden Arbeit nicht eingegangen, da diese Grundlage einer späteren Veröffentlichung sein soll.

4.3.2 Entwurf der Prothesen

Die Prothesen wurden an der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich (ETH Zürich) entworfen. Zunächst wurde die entsprechende Literatur zu Prothesen bei Kaninchen geprüft, dann die Anatomie mit Fachspezialisten betrachtet. Es wurden anhand von Computertomographie (CT)- Aufnahmen 3D Scans von Kaninchen mit durchschnittlichen Eigenschaften (Grösse und Gewicht) und eine Bewegungsanalyse der Tiere angefertigt. Mit Hilfe der Ergebnisse wurde anschliessend am CAD-System (computer-aided design-System) ein entsprechendes Prothesenmodell modelliert, mittels 3D Drucker angefertigt und als Prototyp aus Polymer an Kadavern getestet. Nach mehreren Anpassungen lag ein zufriedenstellendes Ergebnis vor, mit dem man die Studie am lebenden Tier aufnehmen konnte (siehe Abb. 4.1). Die Prothese wurde den

natürlichen Gegebenheiten nachempfunden, Abweichungen von der physiologischen Form des Tibiaplateaus und des interkondyären Femurbereichs mussten jedoch gemacht werden, um trotz entfernter Seiten- und Kreuzbänder eine Achsen- und Rotationsstabilität gewährleisten zu können (auch „constraint“ genannt). Dies wurde durch einen Verriegelungs-Effekt erreicht. Ein zentral auf dem Tibiaprothesenanteil aufgesetzter Pin der mit einer Aussparung zwischen den Femorkondylen interagiert diente als Grundlage des Effektes (siehe Abb. 4.1 b, e).

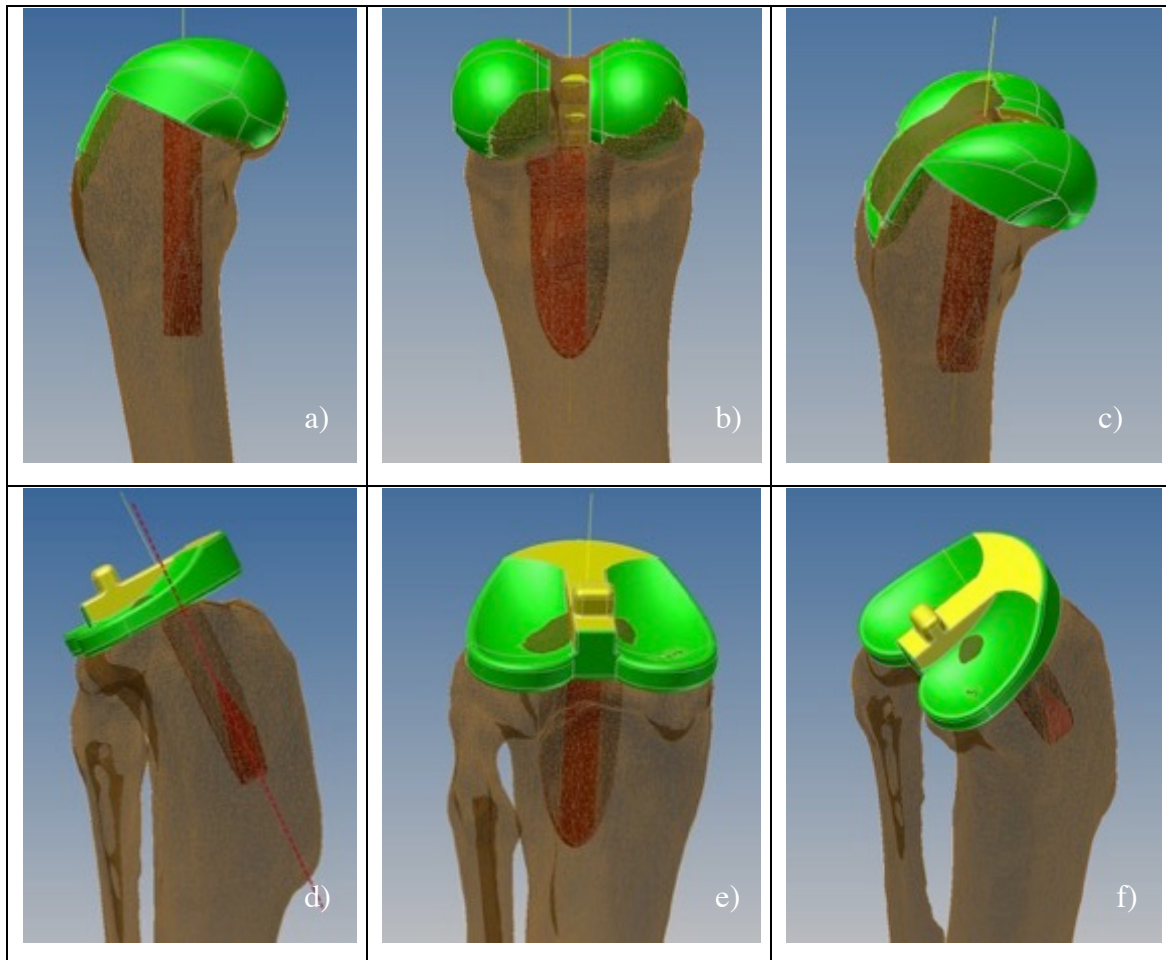


Abb. 4.1: Computerzeichnung der fertig angepassten Knieprothesenanteile, a-c: Femurprothese (grün, gelb und rot) d-f: Tibiaprothese (grün, gelb, rot);
grün: Hauptprothesenanteil, Artikulationsflächen von Femur und Tibia,
gelb: Verriegelungsmechanismus, („Constraint“) an Femur- (b) bzw. Tibiaprothese (d,e,f)
rot: Prothesenstamm in der Markhöhle (a-f)
a,d) seitliche Ansicht Femur/Tibia; b,e) kaudale Ansicht; c,f) schräge Ansicht

4.3.3 Herstellung der Prothesen

Die Herstellung der Prothesen erfolgte in Zusammenarbeit der Universität Zürich (UZH), ETH Zürich und der Jossi Orthopedics AG (Islikon, Schweiz). Das jeweilige Rohmaterial (Titan bzw. CoCrMo) wurde von Materiallieferanten, üblicherweise als drei Meter lange Stangen, eingekauft (s.o.). Mithilfe einer Metallkreissäge wurden die

Stangen auf ca. 20 cm grosse Einzelteile zugeschnitten. Die Formgebung fand im nächsten Schritt statt: Das am PC entworfene 3D-Modell des Implantates wurde in Maschinensprache übersetzt und an eine Fräsmaschine übertragen. So erhielt man eine Prothese, die noch einer spanabhebenden Feinbearbeitung durch einen Kugelfräser sowie der sogenannten Funkenerosion bedurfte. Unter Funkenerosion versteht man ein thermisches, abtragendes Trennverfahren für leitfähige Materialien. Elektrische Entladevorgänge, in diesem Fall Funken, schlagen von dem Werkzeug auf das Implantat-Material über, dieses wird punktförmig aufgeschmolzen und verdampft daraufhin. Die Bearbeitung erfolgt in einem nichtleitenden Medium, meist Öl oder deionisiertem Wasser. Das Funkenerodieren wird nötig, wenn sehr schmale, eckige Sacklöcher benötigt werden. Es erfolgte bei den Prothesen an zwei Stellen am Femur (siehe Abb. 4.2, blauer Pfeil).

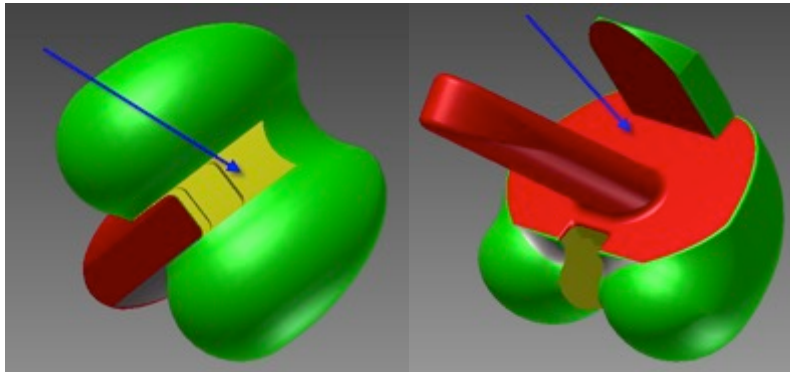


Abb. 4.2: Prothesendesign Femur. Der blaue Pfeil zeigt die Stellen die der Funkenerosion bedurften

Am Ende des Fertigungsprozesses wurde die Prothese in mehreren Schritten poliert und anschliessend in einem Waschprozess gereinigt.



Abb. 4.3: Femur- (oben) und Tibiaprothese (unten im Bild) am Ende des Fertigungsprozesses

4.3.4 Herstellung der Tibia- und Femur-Schneidlehre

Bei Kadaver OPs für das geplante Projekt stellte man fest, dass eine einheitliche Schnittführung an Femur und Tibia ohne ein Hilfswerkzeug nur schwer umzusetzen war. Standardisierung ist allerdings, im Hinblick auf die Reproduzierbarkeit des Versuches und eines Vergleiches der Versuchstiere untereinander, unabdingbar. Die Firma Jossi Orthopedics AG (Islikon, Schweiz) wurde deshalb ebenfalls mit der Herstellung von Schneidlehren für die geplanten Operationen beauftragt. Nach Klärung der Randbedingungen, wie operativer Zugang zum Gelenk und gewünschte Materialeigenschaften der Schneidlehren, erhielt Jossi Orthopedics AG einen Computertomographie (CT) Scan eines Kaninchen-Kniegelenkes (Tier mit durchschnittlicher Grösse und Gewicht). Anhand dieses Knochenscans wurde eine Fertigungszeichnung angefertigt. Dies geschah mit einem CAD-System (computer-aided design-System). Dabei handelt es sich um ein computerunterstütztes Erzeugen von 3D Konstruktionen, in unserem Falle der gewünschten Schneidlehre, angepasst an den Kaninchenknochen. Das verwendete CAD-System war Inventor® (Autodesk Development Sarl, Neuchâtel, Schweiz). Um das am Computer erarbeitete Modell in ein reales Produkt umwandeln zu können gibt es die sogenannte STL-Schnittstelle. STL steht für **ST**ereo**L**ithography und ist ein Dateiformat das als Gemeinschaftssprache zwischen dem CAD-System und einem 3D-Drucker verstanden werden kann. Das bedeutet, dass man durch diese Schnittstelle in der Lage ist, ein am Computer hergestelltes Konstrukt wie die Schneidlehre, per STL-Datei an einen 3D Drucker zu senden, der das Produkt dann in die Realität umsetzt. Ein Prototyp der Schneidlehre wurde wegen Zeit- und Kostenersparnis direkt im 3D-Druckverfahren hergestellt, statt konventionell in Handarbeit. Verwendetes Material war PA12 (Polyamid). Der Prototyp war sehr zufriedenstellend in Qualität und Beschaffenheit, sodass festgelegt wurde, die Schneidlehren weiterhin im 3D Druckverfahren herzustellen. Als Material für die in den Operationen eingesetzten Schneidlehren wurde ein anderes Material ausgewählt als das für den Prototyp Verwendete. Es handelte sich um das Photopolymere Acrylnitril-Butadien-Styrol (ABS), das als Hochleistungskunststoff das Dampfsterilisationsverfahren unbeschadet überstehen kann, was für die angestrebten Zwecke Bedingung war (fertige Schneidlehren siehe Abb. 4.4).

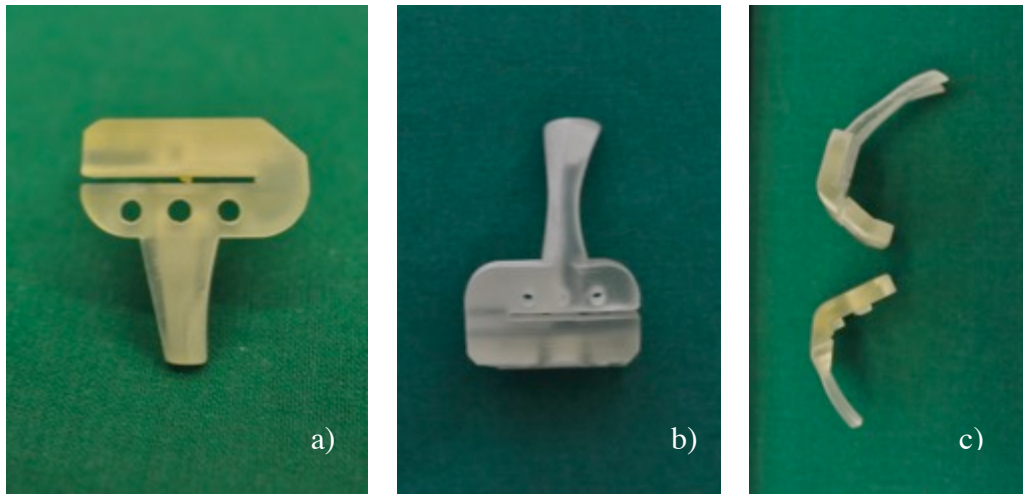


Abb. 4.4: fertige Schneidlehren, a,b: Tibia- bzw. Femurschneidlehre, Frontalansicht;
c: oben Femur- unten Tibiaschneidlehre, Lateralansicht

4.4 Operation

4.4.1 Prä- und Perioperatives Management

Innerhalb von 48 Stunden vor dem operativen Eingriff erfolgte eine Aktualisierung der Gewichtserfassung, um eine präzise Dosierung sowohl der Anästhesie, als auch der peri- und postoperativen analgetischen Versorgung sicherzustellen. Am Tag der OP wurden die Tiere zunächst in den Operationssaal verbracht. Dort wurde eine präanästhetische Untersuchung durchgeführt, welche Herz- und Lungenauskultation, Bewertung des Pulscharakters, Hydrationsstatus und der Schleimhautfarbe beinhaltete. Wurden keine groben Abweichungen der Normwerte beobachtet, erfolgte die Einleitung der Anästhesie mit Alfaxan intranasal (i.n.; Alfaxan® 10mg/ml, 3-5mg/kg KGW, Jurox (UK) Limited, Worcestershire, Vereintes Königreich) und ggf. zusätzlich mit Midazolam i.n. (Midazolam Sintetica 5mg/ 1ml, 0,1 mg/kg KGW, Syntetica AG, Mendrisio, Schweiz). Das jeweilige Kaninchen wurde nach Desensibilisierung des Larynx mit Lidocain 1% (Lidocain 2% Streuli®, Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz + NaCl 0,9%, B. Braun Medical AG, Sempach, Schweiz, verdünnt im Verhältnis 1:1) endotracheal intubiert. Die Aufrechterhaltung der Anästhesietiefe erfolgte durch eine balancierte Anästhesie mit Isofluran-Sauerstoff-Inhalation (Forene, Abbott AG, Baar, Schweiz), teilweise einem Ketamin Bolus (Ketanarkon 100 ad. us. vet., 0,5-2mg/kg KGW, Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz) und einer Ketamin Dauertropfinfusion (DTI) (Ketanarkon 100 ad. us. vet., 15-20 μ g/kg KGW/min, Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz). Überdies erhielten die Tiere für die Dauer des operativen Eingriffs Flüssigkeit in Form einer Ringer-Laktat-Lösung infundiert (5-10ml/kg KGW/h). Beide

Ohren und das rechte Hinterbein wurden grosszügig geschoren. Die Ohren wurden aseptisch vorbereitet, um dann zwei Sicherheits-venenverweilkatheter (BD Venflon™ Pro Safety 22G, Becton Dickinson Infusion Therapy AB, Helsingborg, Schweden) in die V. auricularis bzw. A. auricularis einzubringen. Über den Katheter wurde zunächst eine Blutprobe gewonnen, die hämatologisch und blutchemisch untersucht wurde. Im Anschluss erhielten die Tiere über den venösen Zugang Enrofloxacin (Baytril® 2,5%; 7,5mg/kg KGW, Provect AG, Lyssach, Schweiz), Meloxicam (Metacam® 5mg/ml; 1mg/kg KGW, Boehringer Ingelheim GmbH, Basel, Schweiz) und Buprenorphin (Temgesic®, 0,01mg/kg KGW, Essex Chemie AG, Luzern, Schweiz). So konnte eine optimale peri- und postoperative antiinfektive und antiphlogistische Abdeckung sichergestellt werden.

Eine Loco-Regionalanästhesie der Gliedmasse, genauer: des N. ischiadicus und des N. femoralis, die mit Hilfe eines Nervenstimulators (Stimuplex® HNS 12; B. Braun Medical AG, Sempach, Schweiz) und Ropivacain (Naropin® 0,2%; 4mg/Tier, AstraZeneca AG, Zug, Schweiz) durchgeführt wurde, rundete eine zuverlässige peri- und postoperative Schmerzausschaltung ab. Die Loco-Regionalanästhesie kam nur bei den Operationen der Tiere 34.01 bis 34.16 zum Einsatz. Die Kaninchen wurden für den Eingriff in Rückenlage gelegt mit zur linken Seite gekippten Kopf und Thorax. Danach wurde das Operationsfeld gemäss gängiger Standards aseptisch vorbereitet und steril abgedeckt. Das Anästhesie-Monitoring bestand aus Pulsoxymetrie, Kapnographie, EKG, Blutdruck- und Temperaturmessung und wurde in Zehn-Minuten Intervallen dokumentiert.

4.4.2 Operationsablauf

Eine bebilderte Gesamtübersicht über den Operationsablauf findet sich Schritt für Schritt im Anhang (Abb. 9.2 a-u).

Der operative Zugang zum Kniegelenk erfolgte durch einen 3-5 cm langen geschwungenen Hautschnitt kranio-lateral des Kniegelenkes. Haut und Subkutis wurden vollständig durchtrennt, um Kniegelenk und Patella darstellen zu können. Der distale Anteil der Fascia lata sowie der distale, sehnige Anteil des M. biceps femoris wurden auf Höhe ihres Insertionsgebietes eingeschnitten um einen lateralen Gelenkzugang zu ermöglichen. Nach der Durchtrennung des Ligamentum (Lig.) femoropatellaris lateralis wurde die Patella im nächsten Schritt nach medial disloziert (siehe Abb. 9.2 a). Des Weiteren wurden die Kreuzbänder und Menisci vollständig entfernt, der Fettkörper

jedoch belassen (Abb. 9.2 e). Um das Kniegelenk vollständig darstellen zu können, wurden das Lig. patellae und der M. tibialis cranialis teilweise von dem Tibiaplateau und der Tuberositas tibiae abgelöst. Weiterhin musste auch der Ursprung des M. extensor digitorum longus von dem lateralen Femurkondylus abgelöst werden. Dieser wurde unter Verwendung eines Fadens (Polyglactin 910; Vicryl® 4/0; Johnson & Johnson International, Brüssel, Belgien) für die spätere Refixation markiert (Abb. 9.2 c). Die Schneidlehre musste an den Femurkondylen richtig positioniert werden, um eine korrekte Osteotomie gewährleisten zu können. Hierfür wurde anfangs ein Steinmann Pin (Ø 1.6mm) in die Markhöhle eingebracht (Abb. 9.2 f), dessen korrekter Sitz durch Fluoroskopie verifiziert wurde. Der Steinmann Pin wurde nach Erlangen einer gewissen Routine erlässlich. Verschiedene Bohrer mit ansteigendem Durchmesser (Ø 2.5, 3.5, 4.5 mm) wurden verwendet, um die Markhöhle langsam zu erweitern. Ziel war es, ausreichend Platz für den Befestigungspin der Schneidlehre zu schaffen. Dieser Pin befestigte die Schneidlehre bei allen Tieren in ein und derselben Weise am Femurkondylus (siehe Abb. 9.2 g). Dies war durch ein vorgefertigtes Loch in der Schneidlehre möglich, welche in Verlängerung der Markhöhle immer die gleiche Richtung des Pins vorgab. Der Durchmesser des Befestigungspins wurde identisch des

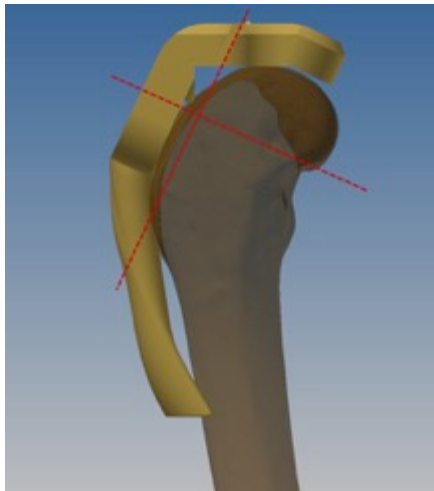


Abb. 4.5: Femur mit Schneidlehre; rot gestrichelt dargestellt ist die angestrebte Schnittrichtung

Femurimplantatstamm-Durchmessers gewählt, so dass im weiteren Verlauf keine weitere Anpassung notwendig war. Im folgenden Schritt wurden dann mit Hilfe einer oszillierenden Säge und der Schneidlehre die Femurkondylen und ein Teil der Patellargrube abgesetzt (siehe Abb. 4.5, Abb. 9.2 h, i, j, k, m). Das Femurimplantat wurde solange angepasst, bis eine zufriedenstellende Stabilität vorhanden war, anschliessend wurde der Sitz des Implantats nochmals per Fluoroskopie überprüft (Abb. 9.2 t, u). Vor der endgültigen Zementierung wurde das Femurimplantat nochmal entfernt, um das

Anpassen des Tibiaimplantats zu erleichtern. Bei Letzterem wurde analog zum Femurimplantat ein Pin in die Markhöhle der Tibia eingebracht und erneut mittels Fluoroskopie die korrekte Position für die Befestigung der Tibiaschneidlehre geprüft. Auch im Falle des Tibiaimplantates wurde die Markhöhle langsam erweitert. Wieder wurden Bohrer mit ansteigendem Durchmesser (Ø 2.5, 3.5, 4.5 mm) verwendet und so

ein passendes Pendant für den Befestigungspin der Schneidlehre geschaffen (Abb. 9.2 l, m). Es wurde der gleiche Befestigungspin wie für den Femur gewählt, auch hier mit einem dem Stamm des Tibiaimplantats entsprechenden Durchmesser. Per Durchleuchtung wurden der korrekte Sitz der Schneidlehre und später des Implantats sichergestellt (Abb. 9.2 t, u). Der Polymethylmethacrylat- (PMMA-) Knochenzement (Refobacin® Bone Cement R, Biomet Orthopaedics Switzerland GmbH, Dietikon, Schweiz) wurde intraoperativ unter sterilen Kautelen angerührt und mit einer handelsüblichen 10ml Spritze (10 ml Single Use Syringe, Henry Schein Inc., Melville, Vereinigte Staaten von Amerika) vorsichtig in die jeweilige Markhöhle eingebracht (Abb. 9.2 n, o). Die Prothesen wurden in die Markhöhlen eingefügt während der Zement noch flüssig war und, durch Aushärtung, dort verankert (Abb. 9 q, r, s). Abschliessend galt es die physiologische Beweglichkeit des Gelenkes zu gewährleisten. Wenn dies der Fall war, wurde der vormals mit dem Faden markierte Ansatz des M. extensor digitorum longus am Lig. patellae angenäht. Die am Anfang des Eingriffes durchtrennten Anteile des Lig. femoropatellaris lateralis, der Fascia lata und des M. biceps femoris, wurden mit einem resorbierbaren Faden (Polyglactin 910; Vicryl® 4/0; Johnson & Johnson International, Brüssel, Belgien) mit Einzelheften miteinander vernäht. Es folgte der routinemässige Verschluss der Haut durch subkutane Einzelhefte und eine fortlaufende Intrakutannaht. Verwendet wurde für die Intrakutannaht ein resorbierbarer monofiler Faden 4/0 (Biosyn 4-0 Violet 30“ V-20, Medtronic Covidien, Zürich, Schweiz). Zum Schutz der Wunde wurde abschliessend noch ein wasserabweisendes Wundspray aufgesprüht. Die Tiere erhielten eine projektbezogene Nummer ins Ohr geschrieben und einen Mikrochip an der linken Halsseite implantiert.

4.4.3 Postoperatives Management

Im Anschluss an die OP und Extubation wachten die Tiere unter Beobachtung in einem auf 32°C vorgewärmten Inkubator (C300-2, Vickers Isolette, Neonatal Infant Incubator, Air-Shields, Inc.; Charlotte, North Carolina, Vereinigte Staaten von Amerika) auf. Sie wurden dann im Kaninchenstall in Einzelboxen untergebracht. Dort hatten sie freien Zugang zu Heu, Wasser und Kraftfutter. Die bereits präoperativ begonnene prophylaktische antibiotische Therapie wurde für sieben Tage einmal täglich in Form von subkutanen Enrofloxacin-Injektionen (Baytril® 2,5%; 7,5mg/kg KGW, Provet AG, Lyssach, Schweiz) fortgeführt. Ebenso wurde der Teil der analgetischen Therapie welche präoperativ begonnen wurde, als subkutane Metacam-Injektion (Metacam®

5mg/ml; 1mg/kg KGW, Boehringer Ingelheim GmbH, Basel, Schweiz) einmal täglich für mindestens sieben Tage weitergeführt. Mit Buprenorphin wurden die Tiere postoperativ noch zweimal im Abstand von 6-8 Stunden per injectionem s.c. behandelt (Temgesic®, 0,01mg/kg KGW, Essex Chemie AG, Luzern, Schweiz). Um die multimodale Schmerz-behandlung letztlich abzurunden, kam postoperativ noch das Schmerzmittel Paracetamol zum Tragen. Dieses wurde erstmals nach dem Aufwachen per oral verabreicht (Dafalgan® Sirup 30mg/ml; 20 mg/kg KGW, Bristol-Myers Squibb SA, Steinhausen, Schweiz) sowie weitere vier Tage je nach Notwendigkeit alle 8-24 Stunden. Nach Ablauf von mindestens sieben Tagen wurden die Kaninchen dann je nach Sozialverhalten wieder in eine Gruppenhaltung überführt, wo sie bis zum Euthanasietermin blieben.

4.5 Blutentnahmen, Röntgenaufnahmen und Fluoreszenzinjektionen

4.5.1 Blutentnahmen

Im Abstand von vier Wochen wurden den Tieren bis zum Zeitpunkt der Euthanasie dreimal Blutproben aus der A. auricularis entnommen. In den Proben sollten im weiteren Verlauf Metall-Ionen bzw. deren Quantität gemessen werden. Das Blut wurde nach der Entnahme zentrifugiert und das gewonnene Serum bzw. Plasma in Eppendorf Gefässe pipettiert. Die Eppendorf Gefässe mit einem Fassungsvermögen von 1-1,5 ml (meist mehrere pro Tier) wurden bei -80°C tiefgefroren.

4.5.2 Röntgenaufnahmen

Vier, acht und zwölf Wochen post OP wurden Röntgenaufnahmen des rechten Kniegelenkes mit der Vollprothese angefertigt, die einer Verlaufskontrolle dienten. Die Röntgenbilder wurden in zwei Ebenen (kranio-kaudal und medio-lateral) aufgenommen. Verwendet wurde eine digitale Röntgenplatte (FDR D-Evo II D35, Fujifilm (Switzerland) AG, Dielsdorf, Schweiz, Seriennummer: 67151100) in Kombination mit dem portablen Röntgengerät (45 kV, 0,8 mAs; Orange 8016HF, inserted x-ray tube: Model: Superior SXR-80-14/10P, Focal spot 1.0mm x 1.0mm, Raymed, medical xray, Düringen, Schweiz). Es wurde der Sitz der Prothese überprüft und ggf. knöcherne Umstrukturierungen oder Zubildungen am Knochen dokumentiert. Nach Möglichkeit wurden die Kaninchen für das Röntgen vier und acht Wochen post OP nicht sediert, wenn die Lagerung jedoch zu viel Stress verursachte, erfolgte eine Sedation mit entweder

- Alfaxalon i.n. (Alfaxan® 10mg/ml, 3-7mg/kg KGW, Jurox (UK) Limited, Worcestershire, Vereintes Königreich), ggf. in Kombination mit Midazolam i.n. (Midazolam Sintetica 5mg/ 1ml, 0,1 mg/kg KGW, Syntetica AG, Mendrisio, Schweiz)
- oder mit 10 mg/kg KGW Ketamin i.v. oder s.c. (Ketanarkon 100 ad. us. vet., Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz) in Kombination mit 10 µg/kg KGW Medetomidin i.v. oder s.c. (Medetor® ad. us. vet., CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Deutschland) und wenn notwendig zusätzlich mit 1-4 mg/kg KGW Propofol i.v. (Propofol 1% MCT Fresenius, Fresenius Kabi (Schweiz) AG, Oberdorf, Schweiz).

Die Röntgenaufnahmen zwölf Wochen post OP wurden nach Feststellung des Todes angefertigt, womit eine Sedation hinfällig wurde.

4.5.3 Fluoreszenz Injektionen

Am Ende verblieben je Gruppe zu neun Kaninchen sechs Tiere in Zürich. Die restlichen drei wurden dem Projektpartner in Leeds zur Verfügung gestellt (siehe 4.1 Aufbau der Studie). Die Tiere, die nach der Euthanasie an der Universität Zürich verblieben, erhielten zu Lebzeiten dreimalig subkutan Fluoreszenzfarbstoffe injiziert. Vier Wochen nach dem Eingriff erfolgte die Injektion von Calceingrün (Fluka Chemie AG, Buchs, Schweiz), welches gemäss Gewicht in einer Dosierung von 20mg/kg KGW verabreicht wurde. Acht Wochen post OP erhielten jene Kaninchen Xylenolorange (Fluka Chemie AG, Buchs, Schweiz) in einer Dosis von 90mg/kg KGW subkutan injiziert. Die letzte Fluoreszenzinjektion erfolgte 48-72 Stunden vor dem Euthanasietermin. Verwendet wurde Tetracyclin (Engemycin® 10%, 30mg/kg KGW, MSD Animal Health GmbH, Luzern, Schweiz).

4.6 Euthanasie

Nach der postoperativen Überlebenszeit von zwölf Wochen wurden die Tiere mittels Transponder und Tätowierung im Ohr eindeutig identifiziert. Daraufhin erfolgte die Sedation mit 10 mg/kg KGW Ketamin i.v. oder s.c. (Ketanarkon 100 ad. us. vet., Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz) in Kombination mit 10 µg/kg KGW Medetomidin i.v. oder s.c. (Medetor® ad. us. vet., CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Deutschland) und im Anschluss die intravenöse Euthanasie mit Pentobarbital (Esconarkon ad us. vet., 150-300 mg/kg KGW, Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz)

mittels Venenverweilkatheter am Ohr. Der Tod wurde anhand eines negativen Auskultationsbefundes und Pupillarreflexes festgestellt. Im unmittelbaren Anschluss erfolgten die zwölf Wochen post OP Röntgenaufnahmen.


4.7 Probengewinnung und -aufbereitung

4.7.1 Entnahme und Aufbereitung der regionalen Lymphknoten

Nach Feststellung des Todes wurden den Tieren beidseits die Lymphonodi (Lnn.) inguinales und die Lnn. poplitei entnommen, bevor beide Knie von umliegendem Weichteilgewebe befreit wurden. Mit Hilfe eines Mobilfunkgerätes (Apple iPhone 6S, Seriennummer F4GQNP4LGRYC) wurden die jeweils entnommenen Lymphknoten fotografisch dokumentiert und in 4%igem gepuffertem Formalin fixiert. Nach Ablauf von mindestens 24 Stunden erfolgte die Entwässerung und im Anschluss die Einbettung der Lymphknoten in Paraffin. Schlussendlich wurden daraus Dünnschnitte angefertigt, die nach einer Trocknungsdauer von mindestens 24 Stunden bei 37°C im Inkubator (Inkubator IN55 plus, VWR International GmbH, Dietikon, Schweiz) einer HE-Färbung (Hämatoxylin-Eosin-Färbung) unterzogen wurden.

4.7.2 Präparation intakter Kniegelenke für den Versand nach Leeds

Von den insgesamt 35 in der Studie befindlichen Tieren gehörten zwei zum Vorversuch und weitere sechs starben frühzeitig (siehe 5.2.6 Postoperative Phase Hauptversuch). So blieben 27 Tiere die in drei Gruppen zu je neun Tieren aufgeteilt wurden. Pro Gruppe waren je drei Tiere zur Bereitstellung für den Projektpartner in Leeds bestimmt (N=9). Bei diesen ausgewählten neun Tieren blieb die Gelenkkapsel des Kniegelenkes unberührt. Tibia und Femur wurden beidseits in der Mitte der Knochen abgesetzt und es wurden von den mit Richtungsbezeichnungen versehenen Kniegelenken Fotografien angefertigt. Bewertet werden konnten bei diesen Kniegelenken nur das umgebende Weichteilgewebe, die Gelenkkapsel und Abriebpartikel (vergleiche Tab. 4.2). Dann wurden sie für mindestens zehn Tage in 4% gepuffertem Formalin fixiert. Nach Ablauf des Zeitfensters wurde das Formalin durch 70%igen Alkohol ersetzt, worin die Kniegelenke bis zum Versand zum Projektpartner verblieben.

MSRU0034 Macroscopic Evaluation Scoring Sheet			 University of Zurich ^{ETH}	
Animal:				
Date/Initials:				
Task	<input checked="" type="checkbox"/>	Grade	Comments/findings	
Soft tissue (surrounding joint and prosthesis): Thickness, grade of fibrosis, inflammation, vascularisation, hematoma/bleeding	<input type="checkbox"/> 0 Normal surrounding tissue <input type="checkbox"/> 1 Mild abnormality <input type="checkbox"/> 2 Moderate abnormality <input type="checkbox"/> 3 Severe abnormality			
Joint capsule: Thickness, vascularisation, grade of fibrosis	<input type="checkbox"/> 0 Normal joint capsule <input type="checkbox"/> 1 Mild abnormality <input type="checkbox"/> 2 Moderate abnormality <input type="checkbox"/> 3 Severe abnormality			
Synovial membrane: Number of layers, wear particles, vascularisation, wear particles	<input type="checkbox"/> 0 Normal synovial membrane <input type="checkbox"/> 1 Mild abnormality <input type="checkbox"/> 2 Moderate abnormality <input type="checkbox"/> 3 Severe abnormality			
Synovial fluid: Amount, consistency, color	<input type="checkbox"/> 0 normal synovial fluid <input type="checkbox"/> 1 Mild abnormality <input type="checkbox"/> 2 Moderate abnormality <input type="checkbox"/> 3 Severe abnormality			
Prosthesis femoral part: Wear, changes in surface of bearing area, fit of prosthesis	<input type="checkbox"/> 0 normal prosthesis <input type="checkbox"/> 1 Mild abnormality <input type="checkbox"/> 2 Moderate abnormality <input type="checkbox"/> 3 Severe abnormality			
Prosthesis tibial part: Wear, changes in surface of bearing area, fit of prosthesis	<input type="checkbox"/> 0 normal prosthesis <input type="checkbox"/> 1 Mild abnormality <input type="checkbox"/> 2 Moderate abnormality <input type="checkbox"/> 3 Severe abnormality			
Visible wear particles: Amount	<input type="checkbox"/> 0 no <input type="checkbox"/> 1 Mild incidence <input type="checkbox"/> 2 Moderate incidence <input type="checkbox"/> 3 Severe incidence			
Notes:				

Tab. 4.2: Makroskopische Bewertungskriterien der Kniegelenke

4.7.3 Präparation und Aufbereitung der restlichen Kniegelenke

Die Kniegelenke beider Seiten der restlichen 18 Kaninchen wurden wie folgt behandelt: Unter sterilen Bedingungen wurde die Gelenkkapsel lateral vorsichtig durch eine Inzision parallel zur Patella von proximal nach distal eröffnet. Es wurde ein Teil der Synovialmembran des rechten Knies entnommen und in 4%iges gepuffertes Formalin eingebracht. Nach Ablauf von mindestens 24 Stunden erfolgte die Entwässerung und im Anschluss die Einbettung zusammen mit den Lymphknoten in Paraffin. Wenn vorhanden, wurde daraufhin Synovia gewonnen und in ein leeres Eppendorf Gefäß gefüllt. Im nächsten Schritt erfolgte die makroskopische Bewertung (entwickeltes Scoring siehe Tab. 4.2) und Präparation der Synovialmembran, welche in einem mit RNA later befüllten Eppendorf Gefäß platziert wurde. Die Patella, dazugehörige Ligamente inkl. Fettpolster und angrenzende Synovialmembranreste wurden in einem Stück entfernt und auf Styropor aufgespannt, um spätere Verformungen zu vermeiden. Die Probe wurde mit Bezeichnung fotografiert und letztlich in einem Röhrchen mit 4% gepuffertem Formalin fixiert. Der Rest des Kniegelenkes (rechtsseitig inkl. der Prothese) wurde für die MMA-Proben-Aufbereitung für mindestens vierzehn Tage in 40% Ethanol fixiert. Dann durchliefen die Proben zum Zwecke der Dehydration eine aufsteigende Alkoholreihe bevor sie einer Entfettung unter Vakuum in Xylol für vier Tage unterzogen wurden. Das Xylol wurde nach dem ersten Tag ausgetauscht. Die Infiltration mit Methylmetacrylat fand eine Woche lang bei 4°C statt. Hergestellt wurde das Methylmetacrylat nach dem folgenden Schema: Ein Liter MMA (Methacrylacid-methylester, Fluka Chemie AG, Buchs, Schweiz), 100 ml Dibutylphtalat (Fluka Chemie AG, Buchs, Schweiz) und fünf Gramm Perkadox 16 (Grogg Chemie AG, Stetten, Schweiz) wurden gemischt und 30 Minuten lang mit Hilfe eines Magnetrührers (Heidolph MR 3001 K, Faust Laborbedarf AG, Schaffhausen, Schweiz) zu einer homogenen Flüssigkeit verarbeitet. Nach der einwöchigen Infiltration im MMA fand die Einbettung statt. Hierzu wurde die Probe auch innerhalb des Glases mit der zugehörigen Projektnummer beschriftet, so dass über den gesamten Bearbeitungszeitraum eine eindeutige Zuordnung gewährleistet werden konnte. Die Gläser wurden zur Polymerisation erneut etwa eine Woche bei 4°C in den Kühlschrank und anschliessend in ein unbeheiztes Wasserbad gestellt. Nach vollständiger Polymerisation wurden diese für ein bis zwei Tage bei 37.5°C in einem Wärmeschränk aufbewahrt. Die Gläser wurden mit einem Gummihammer zerschlagen und die Blöcke mit Leitungswasser von Glassplittern freigespült. Je nach Ausrichtung der Probe im

MMA Block musste dieser zuvor für eine exakte Markierung und Schnittführung durch Aussägen (Mikrobandsäge Proxxon MBS 230/0, BRACK.CH AG, Mägenwil, Schweiz) oder Abschleifen (Schleifmaschine Struers Labor POL 5, Struers GmbH, Birmensdorf, Schweiz) von MMA-Material vorbereitet werden. Das Einzeichnen der Schnittebene erfolgte mit einem Lineal und einem wasserfesten Stift längs zum Knochen. Anschliessend wurde der Block zur Herstellung von Dickschnitten (800-1000 μm) in eine Sägevorrichtung (Diamantbandsäge EXAKT 310 CP, EXAKT Advanced Technologies GmbH, Norderstedt, Deutschland) eingespannt und bis zur Mitte des Knochens geschnitten. Dann wurde der Block neu positioniert eingespannt, und die restliche Hälfte horizontal zum Knochenverlauf gesägt. Die angefertigten Schnitte wurden zunächst mit Leitungswasser gefolgt von 70% Ethanol gereinigt, in Zellstoff gebettet und für mindestens 24 Stunden zwischen Metallgewichte zum Trocknen gelegt, um einer Wellenbildung der Proben entgegenzuwirken. Zur Dokumentation wurden Mikroradiographien der Dickschnitte mit 25-30 kV in einem Faxitron-Röntgengerät (Modell-Nr. 43855A, Faxitron X-ray System, Hewlett Packard® McMinnville, OR, Vereinigte Staaten von Amerika) angefertigt. Nächster Schritt war das Aufziehen der Schnitte mit Schnellkleber (Cementit, Merz + Benteli AG, Niederwangen, Schweiz) auf Acrylobjektträger (PMMA, opal, Maagtechnic AG, Dübendorf, Schweiz). Die aufgezogenen Schnitte wurden dann mit Schleifblättern der Körnung 800 und 1200 auf eine Stärke von 500-600 μm heruntergeschliffen und anschliessend mit einem Schleifblatt der Körnung 4000 für fünfzehn Minuten poliert (Mikroschleifsystem Exakt 400 CS, EXAKT Advanced Technologies GmbH, Norderstedt, Deutschland). Für die folgende Toluidinblau Oberflächenfärbung wurde die Oberfläche der Schnitte mit 0,7%iger Ameisensäure (Fluka Chemie AG, Buchs, Schweiz) fünf Minuten angeätzt, während die Toluidinblau Gebrauchslösung (Fluka Chemie AG, Buchs, Schweiz) in der Mikrowelle auf 60°C erhitzt wurde. Die erhitzte Lösung wurde dann filtriert und auf die Schnitte aufgetropft. Zum Einwirken wurde dies für 15 Minuten belassen, dann kurz unter fliessendem Leitungswasser und daraufhin mit entionisiertem Wasser abgespült und mit Haushaltspapier trockengetupft. Eine Trocknungsdauer von mindestens einer Stunde war der letzte Schritt, bevor die Schnitte für die histologische Auswertung freigegeben werden konnten. Die Fluoreszenzschnitte wurden direkt auf einen transparenten Acrylobjektträger (PMMA, transparent, Maagtechnic AG, Dübendorf, Schweiz) geklebt und mit Alufolie umwickelt um ein Ausbleichen der Farbstoffe zu vermeiden.

4.8 Histologische Probenauswertung

4.8.1 Inguinale und popliteale Lymphknoten

Die gefärbten Dünnschnitte der Lymphknoten beider Seiten wurden mittels eines semiquantitativen Scoresystems von zwei Gutachtern beurteilt. Die Bewertung erfolgte verblindet, d.h. die Gruppenzugehörigkeit der Tiere war vorher nicht bekannt. Bei der mikroskopischen Auswertung wurde ein Bewertungssystem entwickelt für Strukturabweichungen der entnommenen Lymphknoten im Vergleich zu einem physiologischen Lymphknoten (siehe Tab. 4.3).

Weitere bewertete Kriterien waren:

- Das Vorhandensein von Entzündungszellen
- Das Vorhandensein von Fremdmaterial (Abriebpartikel)
 - Menge des vorhandenen Fremdmaterials (Abriebpartikel) ausserhalb der Zellen
 - Menge der Zellen mit intrazellulärem Fremdmaterial. (siehe Tab. 4.4)

Strukturveränderungen	Bewertung	Lymphknoten
keine	0	-
ggr. Strukturveränderungen	1	Aktivierung von Sekundärfollikeln, vaskuläre Reaktion des Kortex (Dilatation von Blut- und/oder Lymphgefäßen)
mgr. Strukturveränderungen	2	<u>lokal</u> : sekundäre Follikelhyperplasie/ follikuläre Depletion (Atrophie), lymphatische Sinusektasie, vaskuläre und medulläre Reaktion von Medulla und Kortex (Dilatation von Blut- und/oder Lymphgefäßen), Makrophagen Hyperplasie (Mantelzone, Sinus)
hgr. Strukturveränderungen	3	<u>gesamtes Organ (Cortex, Paracortex, Medulla)</u> : sekundäre Follikelhyperplasie/follikuläre Depletion (Atrophie), lymphatische Sinusektasie, vaskuläre Reaktion von Medulla und Kortex (Dilatation von Blut- und/oder Lymphgefäßen), Makrophagenhyperplasie, Lymphadenitis, Nekrose

Tab. 4.3: Scoresystem für die Lymphknoten (Strukturveränderungen)

Entzündungszellen/Hypersensitivitätsreaktion-Zellen		
keine	0	-
ggr. Entzündungsreaktion	1	fokale/einzeln auftretende Entzündungszellen
mgr. Entzündungsreaktion	2	mehrere/ multifokal auftretende Entzündungszellen
hgr. Entzündungsreaktion	3	hohe Anzahl/multifokal konfluierende Entzündungszellen

Vorkommen vom Fremdmaterial (wear particles)	
keine	0
an Makrophagen gebunden	1
frei	2
frei und Makrophagen gebunden	3

Menge extrazelluläres Fremdmaterial (wear particles)	
keine	0
wenig (fokal)	1
mittelviel (unregelmäßig verstreut)	2
viel (multifokale Areale)	3

Anzahl von Zellen mit intrazellulärem Fremdmaterial (Polymer)	
keine	0
1 to 5	1
6 to 10	2
mehr als 10	3

Tab. 4.4: Scoresystem für die Lymphknoten (Entzündungszellen, Fremdmaterial)

4.8.2 Synovialmembranen

Die Synovialmembranen der rechten Kaninchenkniegelenke wurden ebenfalls in Paraffin eingebettet und standen am Ende des Verarbeitungsprozesses als gefärbte Dünnschnitte für die Auswertung zur Verfügung. Bei der mikroskopischen Betrachtung wurden die Anzahl vorhandener Entzündungszellen semiquantitativ auf einer Skala von 0 bis 4 bewertet (siehe Tab. 4.5).

Bewertungsschema für Entzündungszellen					
Zelltyp	Bewertung				
	0	1	2	3	4
Polymorphonukleäre Zellen	0	wenige, 1-5/HPF ^a	5-10/HPF ^a	hochgradig infiltriert	Haufenbildung
Eosinophile	0				
Lymphozyten	0				
Plasmazellen	0				
Makrophagen	0				
Riesenzellen	0	wenige, 1-2/HPF ^a	3-5/HPF ^a		über die gesamte Fläche dicht angeordnet
Nekrose	0	minimal	geringgradig	mittelgradig	hochgradig
a= HPF pro Hauptgesichtsfeld (400x)					

Tab. 4.5: Bewertungsschema für Entzündungszellen

Die Gewebereaktion der Synovialmembran wurde ebenso auf einer Skala von 0 bis 4 semiquantitativ evaluiert, wobei die Unterteilung der Gewebereaktionen in

- Neovaskularisation

- Anzahl von ortstypischen Zellen
- Synoviozyten-Hyperplasie

jeweils Beachtung fanden (Scoring-Details siehe Tab 4.6).

Bewertungsschema für Umbauvorgänge					
Umbauvorgänge	Bewertung				
	0	1	2	3	4
Neovaskularisation	0	Minimale kapilläre Proliferation, fokal, 1-3 Knospen	Gruppen von 4-7 Kapillaren mit unterstützenden fibroblastischen Strukturen	Breite Region von Kapillaren mit unterstützendem fibrotischem Gewebe	Ausgedehnte, umfangreiche Region von Kapillaren mit unterstützendem fibrotischem Gewebe
Anzahl von ortstypischen Zellen	Synovialstroma mit normaler Zelldichte	Zelldichte ggr. erhöht	Zelldichte mgr. erhöht	Zelldichte mgr. bis hgr. erhöht, multinukleäre Zellen vereinzelt sichtbar	Zelldichte hgr. erhöht, multinukleäre Riesenzellen vorhanden, Pannusformation
Synoviozyten (hyperplastische Synoviozyten)	0	Synoviozyten bilden eine Schicht	Synoviozyten bilden 2-3 Schichten	Synoviozyten bilden 4-5 Schichten, multinukleäre Zellen vorhanden	Synoviozyten bilden mehr als 5 Schichten mit Ulzeration, multinukleäre Zellen vorhanden

Tab. 4.6: Bewertungsschema für die Gewebereaktion

Als letztes wurde noch die Präsenz von Abriebpartikeln und Fremdpartikeln (Fragmentierung/Debris) auf einer Skala von 0 bis 4 bewertet, wobei sich Einzelheiten zu den Bewertungskriterien aus nachfolgender Tab 4.7 entnehmen lassen.

Bewertungsschema für Parameter des Biomaterials				
Parameter des Biomaterials	Score			
	0	1	2	3
Fremdpartikel (Fragmentation/Debris)	Nicht vorhanden	frei	zellassoziiert (in Makrophagen)	frei und zellassoziiert
Anzahl der Abriebpartikel, falls vorhanden	keine	wenige (fokal)	mäßige Anzahl	reichlich (multifokal bis in Haufen auftretend)

Tab. 4.7: Bewertungsschema für Parameter des Biomaterials

4.8.3 Fluoreszenz

Die Fluoreszenzschnitte wurden unter Zuhilfenahme eines Fluoreszenzmikroskops (“Stitching function”; Leica[®] DM 600B, Leica[®] DFC 350 FX, Leica[®] Microsystems CMS GmbH, Mannheim, Germany) ausgewertet. Es wurden bei 1.5-facher Vergrößerung drei Bilder je Kniegelenk angefertigt. Die durch Calceingrün (L5-Filter) gefärbten Bereiche kennzeichnen den Knochenumbau nach vier Wochen (siehe Abb. 9.1 a, e), die durch Xylenolorange (N3-Filter) gefärbten Bereiche den nach acht Wochen (Abb. 9.1 b, f) und die durch Tetracyclin gefärbten Bereiche den Knochenumbau nach zwölf Wochen (D-Filter) (Abb. 9.1 c, g). Die einzelnen Farbbilder wurden dann mittels automatisierten Computer-Programms übereinandergelegt (Abb. 9.1 d, h).

Alle die zusammengefügt, überlagerten Bilder sollten hinsichtlich Intensität, sowie Verteilung der Fluoreszenz miteinander verglichen werden. Weiterhin war das Ziel, die direkten Kontaktflächen der Fluoreszenzbereiche mit dem Implantat, sowie die Konturierung der genannten Bereiche in die Auswertung miteinbeziehen zu können.

4.8.4 Toluidinblau gefärbte Dickschnitte

Mittels eines mit Digitalkamera (Leica DFC 420 C) versehenen Makroskops (Leica® M420, Leica- microsystems, Glattbrugg, Schweiz) und entsprechender Software (Leica IM 1000®) wurden die mit Toluidinblau gefärbten Dickschnitte in verschiedenen Vergrößerungen (7,11 x 0,5; 11,2 x 0,5; 17,6 x 0,5 und ggf. 24,6 x 0,5) in einen Computer eingelesen und im TIF-Format abgespeichert. Anhand der gefärbten Dickschnitte konnte beurteilt werden, ob die Prothese in situ war, wie und wo sich der Knochenzement verteilt hatte und ob bzw. in welchem Ausmass Knochenumbauvorgänge an den Kontaktflächen zur Prothese stattgefunden haben.

Auf eine statistische Auswertung der Resultate wurde in der vorliegenden Arbeit verzichtet, da es nicht um einen Vergleich der verschiedenen Implantate, sondern um die Etablierung der massangefertigten Knieprothese für Kaninchen und deren chirurgischer Technik zur Implantation ging. Eine statistische Auswertung der makroskopischen und histologischen Resultate wird in einer Folgearbeit zwischen den verwendeten Implantaten mit oder ohne SiN Coating ausgeführt werden.

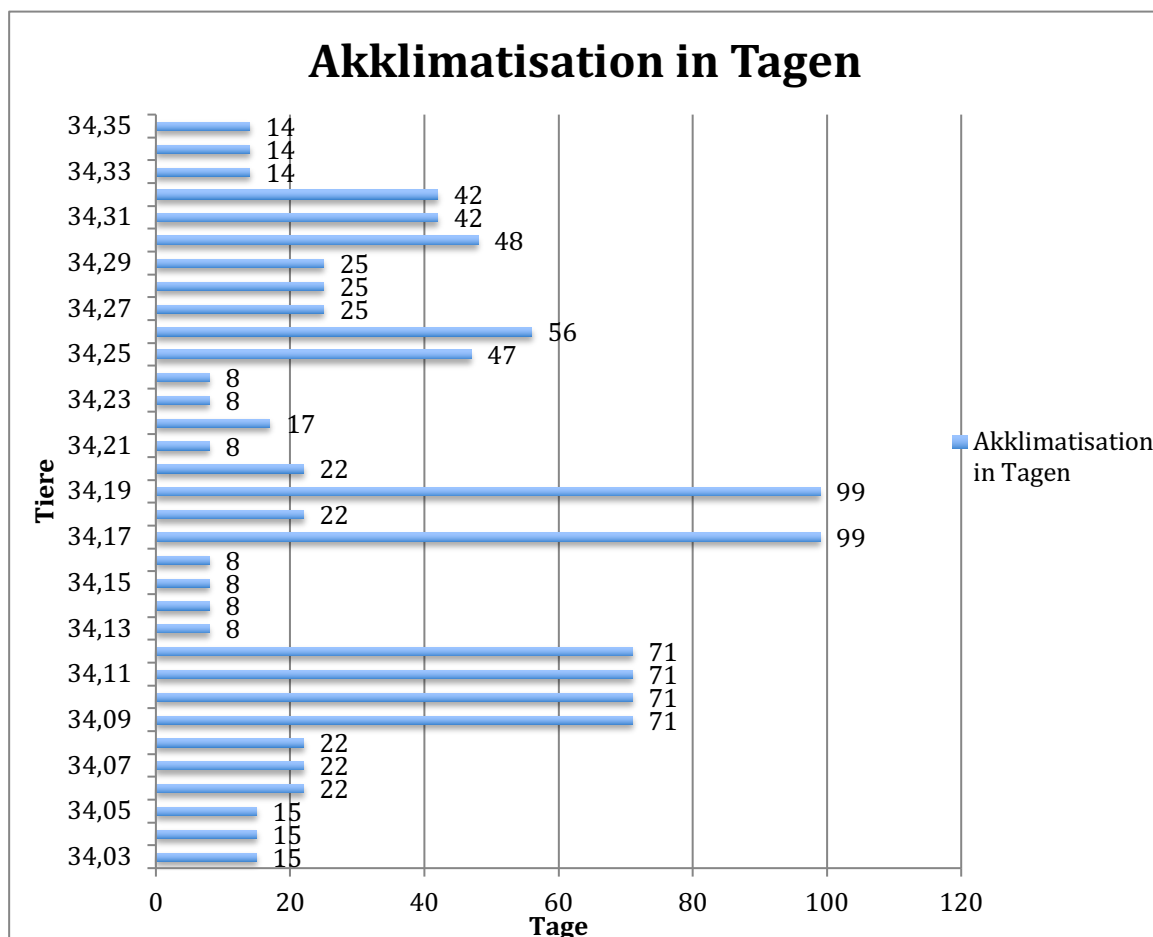
5 Resultate

5.1 Versuchstiere

Von 35 verwendeten Kaninchen wurden 34 erfolgreich operiert, eines verstarb während der Anästhesie Einleitung. Postoperativ kam es zum Verlust von weiteren sechs Tieren aufgrund verschiedener, im Folgenden erläutelter Ursachen (siehe 5.2.6). Insgesamt vollendeten 28 Kaninchen (ein Tier aus dem Vorversuch und 27 aus dem Hauptversuch) die zwölfwöchige postoperative Phase erfolgreich.

5.1.1 Akklimatisation

Die Akklimatisationsphase der Kaninchen begann frühestens mit der Einstellung in das Gebäude YVS-E-117. Im Mittel betrug sie 32,2 Tage (siehe Tab 5.1).



Tab. 5.1: Übersicht über die Akklimatisationsphase der 33 Kaninchen aus dem Hauptversuch; im späteren Verlauf frühzeitig verstorben: 34.05, 34.16, 34.18, 34.19, 34.21, 34.28

5.1.2 Parasitologische Untersuchungen

Die parasitologische Untersuchung einer Sammelkotprobe der Kaninchen zeigte einen hochgradigen (hgr.) Kokzidienbefall. Dieser wurde in mehreren Anläufen therapiert, da

es mit der Ankunft neuer Tiere regelmässig zu Neu- und Reinfektionen kam. Die Kaninchen erhielten über drei Tage einmal täglich Toltrazuril (Baycox 5%® ad us vet., 15mg/kg KGW, ProvetAG, Lyssach, Schweiz) p.o., gefolgt von einer siebentägigen Pause und weiteren drei Tagen Toltrazuril. Jeweils zwei Wochen nach Ende der Behandlung wurde Sammelkot auf Kokzidien untersucht und bei positivem Ergebnis ein neuer Zyklus initiiert. Es fanden insgesamt acht Behandlungszyklen Anwendung, bis ein auf Kokzidien negatives Kotuntersuchungsergebnis vorlag. Zusätzlich zur beschriebenen Behandlung wurde das Futter umgestellt. Die Tiere erhielten von der ersten Kenntnisnahme der Infektion an ein mit Kokzidiostatikum versehenes Futter (UFA 857, UFA AG, Herzogenbuchsee, Schweiz) ad libitum. Die Erkrankung an sich brachte kaum klinische Symptome mit sich. Die Tiere hatten augenscheinlich stets ein gutes Allgemeinbefinden, normales Verhalten und eine unverminderte Futteraufnahme. Rückblickend liess sich lediglich eine Gewichtsabnahme oder -stagnation nachweisen, die näher erforscht hätte werden können. Dennoch kam es durch die spät erkannte Infektion zu Todesfällen in der Versuchstierpopulation. Vor allem erkrankte aber klinisch unauffällige Tiere, die dann dem Stress von Allgemeinanästhesie und Operation ausgesetzt waren, waren betroffen (Einzelheiten siehe 5.2.6 und Tab. 5.3).

5.2 Operation

5.2.1 Anästhesie Vorversuch

Die Anästhesien der beiden Tiere im Vorversuch (34.01 und 34.02) verliefen planmässig und ohne Zwischenfälle.

5.2.2 Anästhesie Hauptversuch

In 31/33 Fällen verlief die Anästhesie der Kaninchen (93,9%) wie geplant und komplikationslos. Tier 34.03 zeigte nach der Einleitung eine kurzfristige Apnoe und Tier 34.28 verstarb bei der Einleitung (siehe Tab. 5.3). Die Loco-Regionalanästhesie wurde bei den ersten 16 Operationen vorgenommen (Tiere 34.01-34.16).

5.2.3 Operationsablauf Vorversuch

Die Operationen der beiden Tiere im Vorversuch verliefen komplikationslos. Sie dienten als Präliminärtiere, um die Operationen des Hauptversuches zu optimieren. Die im Vorfeld für das Absetzen des Tibiaplateaus und der Femurkondylen entwickelten Schneidlehren (siehe Abb. 5.1 a: Erste Version der Tibiaschneidlehre) konnten, durch

das Aufzeigen von Schwachstellen bei den Operationen der Präliminärtiere, den Anforderungen entsprechend verbessert und angepasst werden. Es wurde ein länglicher Steg an beiden Schneidlehren hinzugefügt: An der Femurschneidlehre in proximaler Ausrichtung, an der Tibiaschneidlehre distalwärts gerichtet (siehe Abb. 5.1 b, Abb. 5.2). Eine präzisere Positionierung mit Minimierung des Dislokationsrisikos der Schneidlehre am Knochen wurde dadurch erzielt. Dies trug einen wesentlichen Teil zur verbesserter Reproduzierbarkeit der Operation bei.

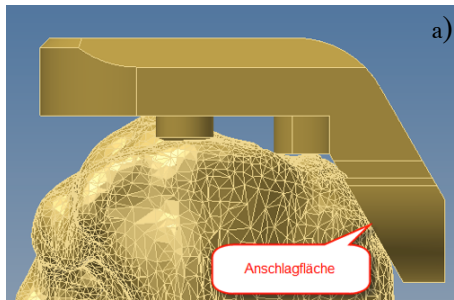


Abb. 5.1 a) Tibiaschneidlehre erste Version

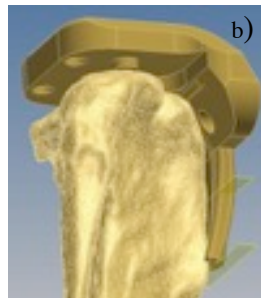


Abb. 5.1 b): Tibiaschneidlehre verbesserte Version mit distalwärts gerichtetem Steg

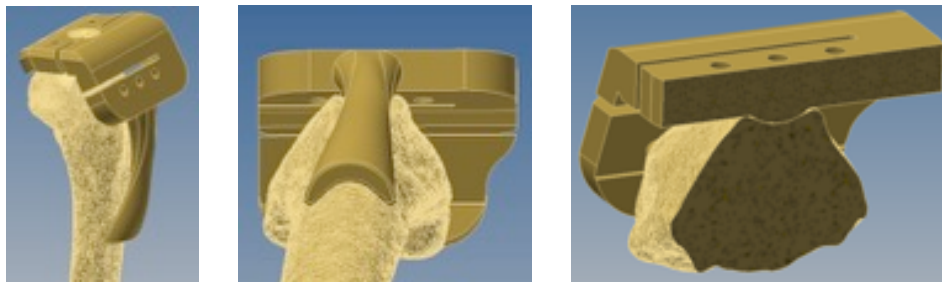
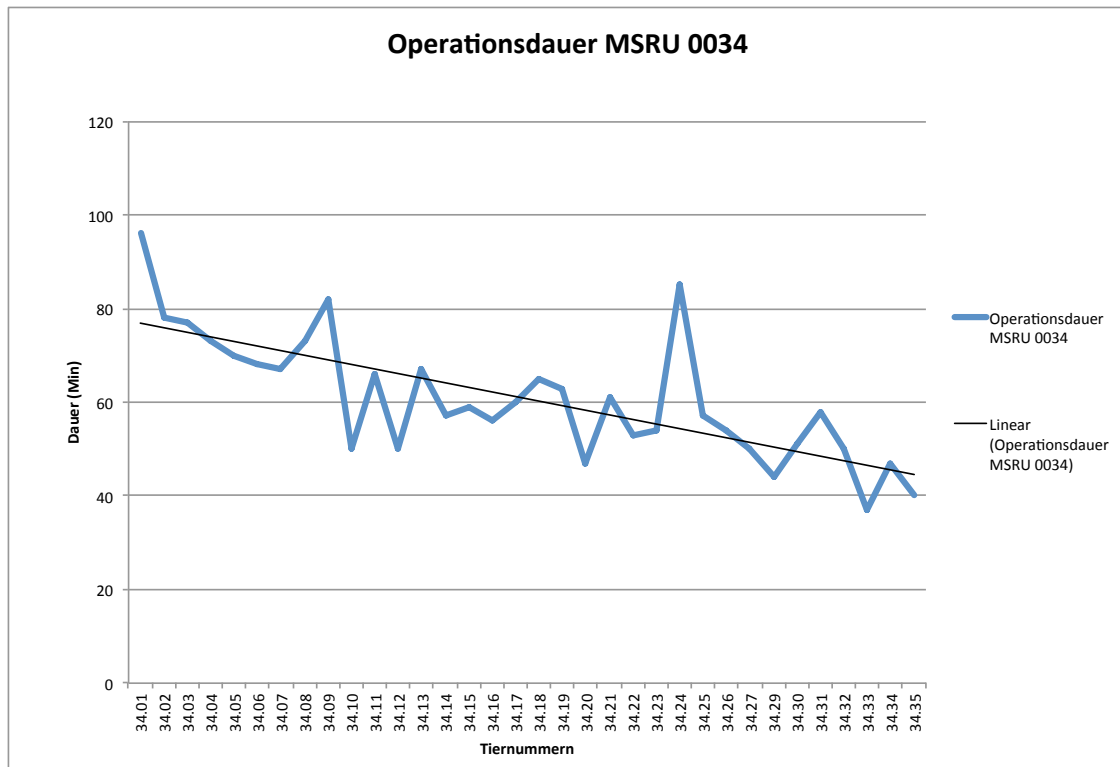


Abb. 5.2: Überarbeitete, verbesserte Version der Femurschneidlehre, neu: länglicher proximal ausgerichteter Steg an der Schneidlehre für eine präzisere Positionierung am Knochen

5.2.4 Operationsablauf Hauptversuch

Die Operationen konnten bei 97% der Tiere im Hauptversuch (32/33) planmässig durchgeführt werden. Ein Tier (34.28) verstarb während der Anästhesieeinleitung und somit unabhängig des chirurgischen Prozedere. Die für diesen Versuch entwickelten Schneidlehren (siehe Abb. 5.1 b und Abb. 5.2) waren einfach in der Handhabung und brachten die gewünschten, reproduzierbaren Ergebnisse. Sie ermöglichten eine standardisierte Schnittführung sowohl für der Entfernung des Tibiaplateaus als auch der Femurkondylen mit der Patellargrube. Die Dauer des chirurgischen Eingriffs betrug im Durchschnitt 61 Minuten. Sie nahm durch die gewonnene Routine im Laufe der Zeit ab, was in Tab. 5.2: Operationsdauer der Versuchstiere im Zeitverlauf dargestellt ist.



Tab. 5.2: Operationsdauer der Versuchstiere im Zeitverlauf

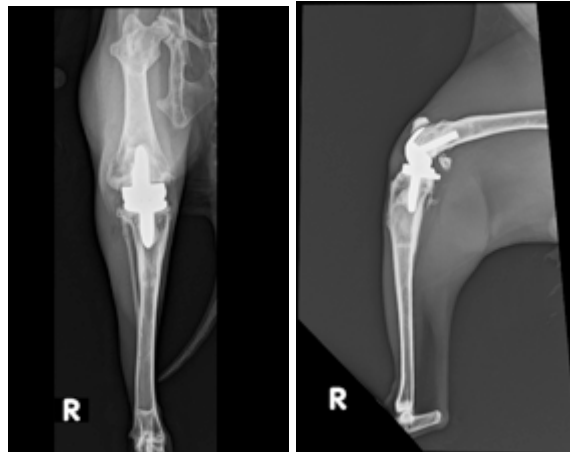
Zur Zeitreduktion der OP-Dauer trug auch bei, dass intraoperativ immer weniger fluoroskopische Bilder gemacht wurden, je erfahrener das Forschungsteam beim Eingriff wurde.

Es gab bei einzelnen Tieren auftretende Besonderheiten im Operationsablauf oder den Operationssitus betreffend:

- Bei einem Kaninchen (34.09) wurde aus den entfernten Femurkondylen ein Autotransplantat gewonnen, um eine Lücke zwischen dem Patellar-Gleitrinnen-Teil der Femurprothese und dem Femur selbst zu füllen. Diese Lücke resultierte daraus, dass das Kaninchen 34.09, verglichen mit den anderen Versuchstieren, anatomisch kleinere Strukturen (insb. ein kleineres Kniegelenk) besass. Durch das Füllen der Lücke konnte eine erhöhte Stabilität erreicht werden.
- Eine vermehrte Gelenkfüllung ohne einen vorhandenen Knorpelschaden fiel zu Beginn der Arthrotomie bei drei Tieren (9,1%; 34.16, 34.34, 34.35) auf.
- Als Besonderheit fiel den Chirurgen bei einem Tier (34.21) intraoperativ auf, dass dessen Knochen deutlich weicher war, als es bei den anderen operierten Tieren der Fall war.
- Durch ein intraoperatives Zementversagen und der damit verbundenen Lockerung der Prothese bei Tier 34.24 musste der Zement komplett entfernt und

neuer Zement angemischt und verwendet werden. Ersichtlich ist dieser Umstand auch in Tab. 5.2. In dieser Tabelle ist bei Tier 34.24 ein sogenannter „Ausreisser“ bei der linear geringer werdenden Operationsdauer zu erkennen. Es wurde aufgrund des ungeplanten Zwischenfalls deutlich mehr Zeit benötigt, als bei regulären Abläufen.

- Allgemein wurde noch notiert, dass das Implantat bei einem Tier (34.33) eine besonders gute Passform besass.



**Abb. 5.3: 34.33, 12 Wochen post OP, kranio-
kaudale (links) und medio-laterale (rechts)
Kontroll-Radiographie**

5.2.5 Postoperative Phase Vorversuch

Die Aufwachphase verlief bei beiden Tieren ruhig und ohne Komplikationen. Ein Muskelzittern durch Hypothermie wurde durch den temperaturkonstanten Inkubator (32°C) vermieden. Die Kaninchen waren durchschnittlich etwa 70 Minuten nach dem Ende der chirurgischen Intervention wieder bei Bewusstsein und nahmen eine physiologische Körperhaltung (Hockstellung) ein. Ein Tier (34.01) konnte die postoperative Periode von zwölf Wochen planmässig und ohne Zwischenfälle vollenden. Das andere (34.02) musste noch am Tag der Operation euthanasiert werden, da es aufgrund eines Zementversagens mit Prothesenlockerung zu einer Luxation des operierten Kniegelenkes gekommen war (siehe Tab. 5.3).

5.2.6 Postoperative Phase Hauptversuch

27/33 Tiere (81,8%) vollendeten die zwölfwöchige postoperative Studienphase erfolgreich. 6/33 Tiere (18,2%) der Hauptstudie verstarben vorzeitig oder wurden euthanasiert, jeweils zu unterschiedlichen Zeitpunkten im Studienablauf, wie im Folgenden erläutert und Tab. 5.3 zu entnehmen ist.

Ein Tier verstarb im Rahmen der Anästhesieeinleitung (siehe 5.2.2). Die Aufwachphase verlief bei 32/33 Tieren (97%) ruhig und ohne Zwischenfälle. Durch den Einsatz eines Inkubators (32°C) in den die Tiere für die Aufwachphase verbracht wurden, konnte eine Hypothermie mit einhergehendem Muskelzittern vermieden werden. Schon durchschnittlich 70 Minuten nach dem Ende der OP waren die Tiere wieder bei Bewusstsein, zeigten eine physiologische Körperhaltung in Form der Hockstellung und nahmen Heu zu sich. Insgesamt drei Todesfälle wurden der latenten Kokzidieninfektion ohne vorherige klinische Symptome zugeschrieben (9,1%; 34.05, 34.18, 34.19). Eines dieser Tiere (34.19) kam nach der Operation und Anästhesie nicht wieder zu Bewusstsein, zeigte Opisthotonus sowie generalisierte Krampfanfälle und verstarb vier Stunden nach der OP spontan. Die beiden anderen Tiere (34.05 und 34.18) verstarben trotz unauffälliger Aufwachphase in einem Zeitfenster von zwölf Stunden nach dem Ende des Eingriffs. Eines (34.18) verstarb spontan und das andere (34.05) musste euthanasiert werden, da es sich bereits in Agonie befand. Ein weiteres Kaninchen (34.21) musste aufgrund eines frakturierten Femurs (Ursache und Zeitpunkt unbekannt) ohne jegliche Verbindung zur eingesetzten Endoprothese vier Wochen post OP eingeschläfert werden. Das Tier zeigte im Vergleich zu den zeitgleich operierten anderen Tieren keine besonderen Abweichungen im Verhalten, der Befund wurde radiologisch während des ersten Routine-Röntgens erhoben (siehe Abb. 5.4). Die Sektion ergab eine fibrotisch stabil überbaute Schrägfraktur des proximalen Femurs.



Abb. 5.4: Kaninchen 34.21, 4 Wo post OP Kontroll Radiographie, Zufallsbefund Schrägfraktur Femur

Lediglich ein Tier aus dem Hauptversuch musste wegen implantat- bzw. operationsbedingten Komplikationen erlöst werden (3%; 34.16).

Nach zwölf Wochen wurden 27 Versuchstiere planmässig euthanasiert.

Tiernummer	Gründe für den Ausschluss der Tiere aus der Hauptstudie
34.01	Präliminäres Tier
34.02	Präliminäres Tier/wurde wegen Zementversagen mit darauffolgender Implantatlockerung euthanasiert
34.05	Euthanasie in der Nacht nach der OP wegen eines kardiovaskulären Schocks infolge von Kokzidieninfestation
34.16	Euthanasie wegen Luxation des operierten Kniegelenks zwei Tage nach der OP
34.18	Unerwarteter Spontantod wenige Stunden nach der OP durch eine Magenruptur wegen Kokzidieninfestation
34.19	Unerwarteter Spontantod wenige Stunden nach der OP durch Kokzidieninfektion
34.21	Euthanasie aufgrund einer Femurfraktur der operierten Gliedmaße 4 Wochen post OP
34.28	Unerwarteter Tod während der Einleitung der Anästhesie

Tab. 5.3 Übersicht über die exkludierten Tiere aus der Hauptstudie und die Gründe der Exklusion

5.2.6.1 Besonderheiten in der postoperativen Phase

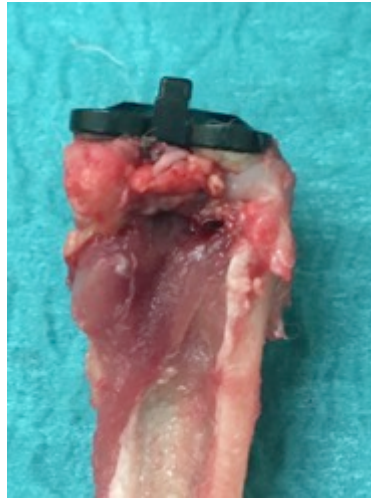
5.2.6.1.1 Zusätzliche Anästhesien

Ein Tier (34.03) musste einen Tag post OP erneut anästhesiert werden, um die teilweise gelöste Wundnaht zu erneuern, ein weiteres (34.13) zur Reposition einer luxierten Patella. Als Versuch einer Stabilitätsverbesserung wurde bei dem Tier 34.10 14 Tage post OP einer Kapselraffung durchgeführt, bei zwei weiteren (34.03 und 34.24) wurde vier Wochen post OP unter Sedation ein Repositionsversuch luxierter Prothesenteile vorgenommen. Im Anhang findet sich eine Tabelle mit den genauen Zeitpunkten der weiteren Anästhesien sowie den verwendeten Anästhetika (Tab. 9.1).

5.2.6.1.2 Luxationen

Die Luxation der Knieprothese war postoperativ eine häufiger auftretende Komplikation und betraf 5/27 Kaninchen (18,5%; 34.03, 34.10, 34.16, 34.24, 34.27). Drei der Tiere wurden eines Repositionsversuches in Anästhesie unterzogen (siehe 5.2.6.1.1). Ein Tier (34.27) wurde lediglich regelmässig auf Wohlergehen und Schmerzfreiheit kontrolliert und eines musste euthanasiert werden (34.16). Die Euthanasie war deshalb notwendig, da das Kniegelenk dauerhaft luxiert war, einhergehend mit Gewebeschäden und Schmerzen. Nach dem Tod des Tieres wurde am eröffneten Kniegelenk der Grund für das Scheitern der Repositionsversuche ersichtlich: die Prothese war schief implantiert, da das Tibiaplateau versehentlich schief abgesetzt wurde (siehe Abb. 5.5). Dadurch

konnte das Constraint von dem Tibiaimplantat nicht mit dem Femurimplantat kommunizieren und es kam zur Luxation.



**Abb. 5.5: 34.16, schief
implantierte Tibiaprothese,
Ansicht von kaudal**

5.2.6.1.3 Umfangsvermehrungen, Schwellungen

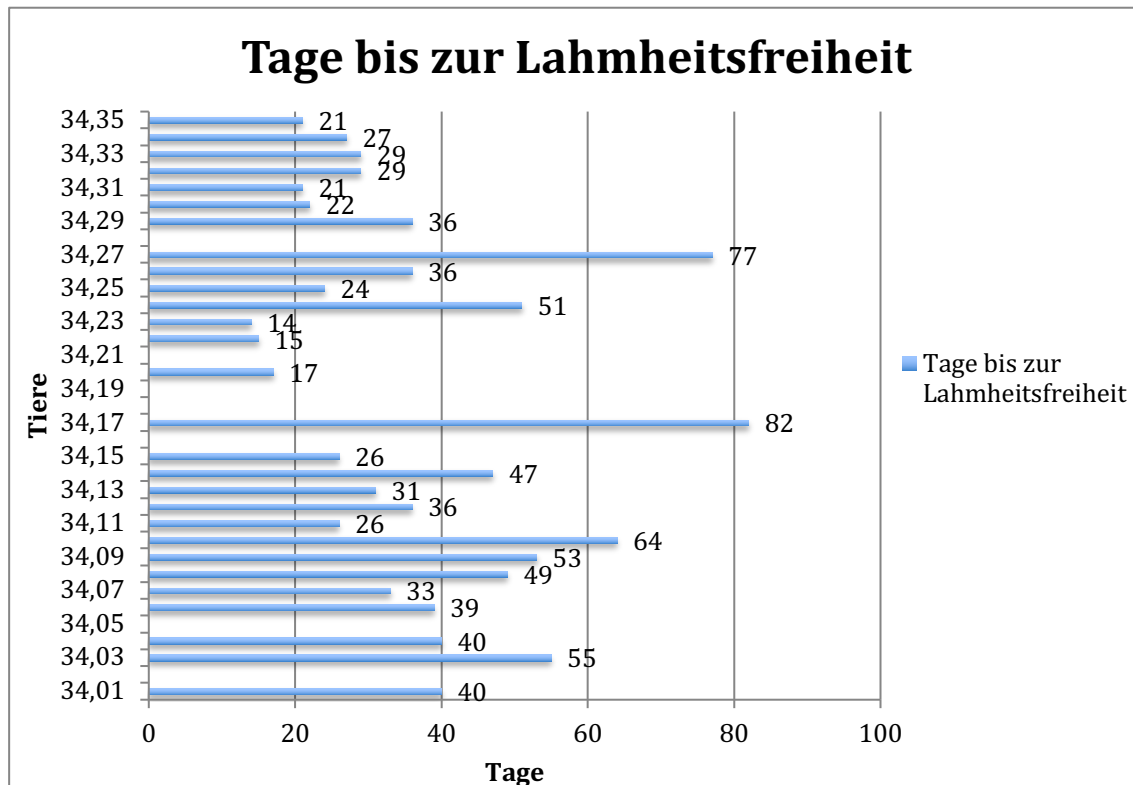
Kaninchen 34.26 war bereits seit 14 Tagen schmerzmittelfrei, als eine Weichteilschwellung, einhergehend mit Schmerzhaftigkeit, lateral am operierten Knie festgestellt wurde. Infolge dessen wurde das Tier erneut für sechs Tage analgetisch abgedeckt. Eine fluktuierende Umfangsvermehrung lateral am operierten Knie wurde bei zwei weiteren Tieren beobachtet, einmal über einen Zeitraum von sechs Tagen (34.13) beginnend acht Tage postoperativ, das andere Mal für eine Periode von acht Tagen (34.17) beginnend am 22.Tag nach der OP. Die beiden Tiere waren weder eingeschränkt in Bewegung oder Wohlergehen, noch vermehrt schmerzhaft. Deshalb erfolgte trotz der genannten Feststellungen keine abweichende Behandlung im Vergleich zu den Tieren ohne Besonderheiten.

5.2.6.1.4 Andere Auffälligkeiten

Bei einem Tier (34.07) wurden sechseinhalb Wochen post OP multiple Bissverletzungen festgestellt. Diese wurden ihm mutmasslich von den anderen Tieren in seinem Gehege zugefügt.

5.3 Lahmheitsdiagnostik

Im Mittel betrug die Zeitdauer bis die Tiere lahmheitsfrei waren 37,1 Tage. Am längsten entlasteten die Tiere 34.27 (77 Tage) und 34.17 (82 Tage) die operierte Gliedmasse. Eine Übersicht über die Dauer bis zur Lahmheitsfreiheit der einzelnen Tiere bietet Tab. 5.4.



Tab. 5.4: Die Anzahl der Tage bis zur Lahmheitsfreiheit aller Tiere im Vergleich

Bei einigen Tieren wurde - unabhängig von einer Lahmheit - eine Versteifung des Kniegelenks, die Extension betreffend, beobachtet. Diese war variabel in der Ausprägung. Da die Beweglichkeit des Kniegelenks im Laufe der Studie als wichtiges Kriterium entdeckt wurde, erfolgte alle vier Wochen eine Überprüfung. Die Daten hierzu sind Tab. 5.5 zu entnehmen. Im Gruppenvergleich zeigen sich keine Tendenzen.

Gruppe	Tiernummer	4 Wochen post OP	8 Wochen post OP	12 Wochen post OP
präliminär	34.01	n.a.	n.a.	n.a.
	34.02			
Referenzimplantat (CoCrMo)	34.03	n.a.	n.a.	Bein beweglich bis weniger als 90°
	34.04	n.a.	n.a.	Bein beweglich bis etwa 130°
	34.06	n.a.	n.a.	n.a.
	34.07	n.a.	n.a.	n.a.
	34.08	n.a.	n.a.	Bein beweglich bis 95°
	34.09	beweglich bis 90°	Prothese sitzt sehr gut, wesentlich beweglicher als vor 4 Wochen bis 120°	Bein beweglich bis etwa 120°
	34.10	Prothese sitzt nicht korrekt	Prothese sitzt perfekt	Bein beweglich bis etwa 120°
	34.12	n.a.		Bein beweglich bis etwa 100°
	34.11	n.a.	Prothese sitzt sehr gut, Bein frei beweglich	Bein beweglich bis etwa 110°
Testimplantat 1 (Titan beschichtet)	34.13	n.a.	Prothese sitzt sehr gut, Bein sehr gut beweglich bis 160°	Prothese sitzt sehr gut, Bein sehr gut beweglich bis 160°
	34.15	n.a.	Prothese sitzt gut, Bein gut beweglich bis 115°	Prothese sitzt gut, Bein gut beweglich bis 95°
	34.20	Bein gut beweglich bis 110°	Bein gut beweglich bis 130°	Bein gut beweglich bis etwa 120°
	34.23	Bein gut beweglich bis 100°	Bein gut beweglich bis 175°	Bein gut beweglich bis ca. 170°
	34.26	Bein gut beweglich bis 170°	Knie streckbar bis etwa 170°	Knie streckbar bis etwa 140°
	34.29	Bein gut beweglich bis 90°	Knie streckbar bis etwa 80°	Knie streckbar bis etwa 80°
	34.31	Knie streckbar bis etwa 150°	Knie streckbar bis etwa 140°	Knie streckbar bis etwa 125°
	34.34	Knie streckbar bis etwa 120°	Knie streckbar bis etwa 150°	Knie streckbar bis etwa 140°
	34.35	Knie streckbar bis etwa 90°	Knie streckbar bis etwa 100°	Knie streckbar bis etwa 90°
Testimplantat 2 (CoCrMo beschichtet)	34.14	n.a.	Prothese sitzt sehr gut, Bein sehr gut beweglich bis 180°	Prothese sitzt sehr gut, Bein gut beweglich bis 100°
	34.17	Bein gut beweglich bis 100°	Bein gut beweglich bis etwa 95°	Bein gut beweglich bis etwa 85°
	34.22	Bein gut beweglich bis 90°	Bein gut beweglich bis 150°	Bein gut beweglich bis ca. 135°
	34.24	Bein gut beweglich bis 90°, Luxation der Prothese -->kann nicht behoben werden	Bein gut beweglich bis 110°, Luxation der Prothese unverändert	Bein beweglich bis 95°, Luxation der Prothese unverändert
	34.25	Bein gut beweglich bis 170°	Knie streckbar bis etwa 150°	Knie streckbar bis etwa 130°
	34.27	Bein gut beweglich bis 180°	Knie streckbar bis etwa 110°, Prothese luxiert spontan	Knie streckbar bis etwa 150°
	34.30	Knie streckbar bis etwa 160°	Knie streckbar bis etwa 160°	Knie streckbar bis etwa 150°
	34.32	Knie streckbar bis etwa 85-90°	Knie streckbar bis etwa 90°	Knie streckbar bis etwa 90°
	34.33	Knie streckbar bis etwa 170°	Knie streckbar bis etwa 160°	Knie streckbar bis etwa 130°
Exkludiert	34.05			
	34.16			
	34.18			
	34.19			
	34.21			
	34.28			

Tab. 5.5: Beweglichkeit der Kniegelenke im Zeitverlauf

5.4 Blutentnahmen, Röntgenaufnahmen und Fluoreszenzinjektionen

5.4.1 Blutentnahmen

Die Blutentnahmen erfolgten bei allen 27/33 Tieren des Hauptversuches (sechs Tiere sind frühzeitig verstorben, siehe 5.2.6) sowie bei einem Präliminärtier planmässig und ohne Komplikationen. Die Proben wurden für eventuelle zukünftige Untersuchungen bei -80°C gelagert.

5.4.2 Röntgenaufnahmen

Die Radiographien des operierten, rechten Kniegelenkes wurden bei den Tieren planmässig nach vier, acht und zwölf Wochen in zwei Ebenen (medio-lateral und kranio-kaudal) angefertigt. Die Aufnahmen konnten zum Teil auch ohne Sedation angefertigt werden, insbesondere je länger die Tiere an die Kontaktperson/en gewöhnt waren (Einzelheiten siehe Tab. 9.1). Zwei Tiere (34.01, 34.10) wurden zusätzlich zu den geplanten Radiographien auch drei Wochen post OP geröntgt. Grund war eine Luxation und der Ausschluss einer Fraktur. Es konnten qualitativ hochwertige Röntgenaufnahmen hergestellt werden, die gut auswertbar und einer Verlaufskontrolle dienlich waren (siehe Tab. 9.1).



**Abb. 5.6: medio-laterale
Kontroll-Radiographie (34.34,
4 Wo post OP)**



**Abb. 5.7: kranio-kaudale
Kontroll-Radiographie (34.34,
4 Wo post OP)**

5.4.3 Fluoreszenz Injektionen

Die subkutanen Injektionen der drei verschiedenen Fluoreszenz-Farbstoffe erfolgten planmässig und verliefen reibungslos.

5.5 Euthanasie

Die Euthanasie wurde bei allen 28 Tieren (ein Tier aus dem Vorversuch und 27 aus dem Hauptversuch) wie geplant und ohne Komplikationen durchgeführt.

5.6 Probengewinnung, Fixation und Aufbereitung der gewonnenen Gewebeproben

5.6.1 Entnahme und makroskopische Beurteilung der Lymphknoten

Bei allen 27 Kaninchen der Hauptstudie wurden die regionalen Lymphknoten (Lnn. poplitei und Lnn. inguinales) beider Seiten entnommen (N=108). 4/108 Lymphknoten (N=2 Lnn. inguinales, N=2 Lnn. poplitei) konnten nicht lokalisiert und entnommen



Abb. 5.8: entnommener Ln. popliteus von Tier 34.10

werden (siehe Tab. 5.6 und Tab. 9.2). In den Testimplantatgruppen 1 (TI1) und 2 (TI2) wurden makroskopische Veränderungen in Grösse und Farbe der Lymphknoten festgestellt, während die Lymphknoten der RI-Gruppe keine Veränderungen zeigten (siehe Tab. 5.6). Insgesamt waren in der TI1 Gruppe bei 7/9 Tieren (77,8%) die regionalen Lymphknoten bräunlich-dunkel verfärbt und die Lnn. von 2/9 Tieren (22,2%) vergrössert. Von den sieben Tieren mit verfärbten Lnn. waren drei hochgradig (33,3%; 34. 13, 34.15, 34.26), eines mittelgradig (11,1%; 34.29) und drei geringgradig (33,3%; 34.20, 34.34, 34.35) betroffen. Von den beiden Tieren der TI1 Gruppe mit vergrösserten Lnn. war ein Tier mgr. betroffen (34.26), das andere ggr. (34.29).

In der TI2-Gruppe waren bei 6/9 Tieren (66,7%) die Lymphknoten farblich verändert, bei 4/9 Tieren (44,4%) waren sie vergrössert. Von den sechs Tieren mit verfärbten Lnn. war eines hochgradig (11,1%; 34.14), drei mittelgradig (33,3%; 34.25, 34.30, 34.32) und zwei geringgradig (22,2%; 34.17, 34.27) betroffen. Bei den vier Tieren mit vergrösserten Lnn. war eines mgr. betroffen (11,1%; 34.25) und die anderen drei ggr. (33,3%; 34.17, 34.27, 34.30).

Lymphknoten				
Gruppe	Tiernummer	Lokalisation	makroskopische Veränderung	
			vergrößert	bräunlich-dunkel verfärbt
TI 1 (Test-implantat, Titan beschichtet)	34.13	Ln. popl. re		X
		Ln. popl. li		X
		Ln. ing. re		X
		Ln. ing. li		X
	34.15	Ln. popl. re		X
		Ln. popl. li		X
		Ln. ing. re		X
		Ln. ing. li		X
	34.20	Ln. popl. re		X
	34.26	Ln. popl. re	X	X
		Ln. popl. li		X
		Ln. ing. re	X	X
		Ln. ing. li		X
	34.29	Ln. popl. re	X	
		Ln. ing. re		X
	34.34	Ln. popl. li		X
	34.35	Ln. ing. re		X
TI 2 (Test-implantat 2, CoCrMo beschichtet)	34.14	Ln. popl. re		X
		Ln. popl. li		X
		Ln. ing. re		X
		Ln. ing. li		X
	34.17	Ln. ing. li	X	X
	34.25	Ln. popl. re	X	X
		Ln. popl. li		X
		Ln. ing. re	X	X
	34.27	Ln. ing. re	X	X
	34.30	Ln. popl. re		X
		Ln. ing. re	X	X
	34.32	Ln. popl. re		X
		Ln. popl. li		X
		Ln. ing. li		X

Tab. 5.6: Makroskopische Veränderungen der regionalen Kniegelenklymphknoten zum Entnahmezeitpunkt

5.6.2 Entnahme intakter Kniegelenke für den Versand nach Leeds und makroskopische Bewertung

Insgesamt waren die Kniegelenke von neun Tieren für den Versand nach Leeds bestimmt. Die beidseitige Kniegelenkentnahme konnte ohne Komplikationen durchgeführt werden. Die Ergebnisse der makroskopischen Bewertung sind nachfolgender Tabelle (Tab. 5.7) zu entnehmen. Sie waren insgesamt im Gruppenvergleich relativ ähnlich wobei die makroskopischen Veränderungen in der RI-Gruppe weniger stark ausgeprägt waren als in den Testimplantat-Gruppen.

- Bei 2/3 Kaninchen der RI-Gruppe (34.03, 34.04; 66,7%) wurden ggr. Veränderungen im umgebenden Weichteilgewebe festgestellt, bei den beiden TI-Gruppen war jeweils bei 3/3 Tieren (TI1: 34.13, 34.23, 34.26; TI2: 34.22,

34.24, 34.27; je 100%) das umliegende Weichteilgewebe von gering- bis mittelgradigen Veränderungen betroffen.

- Die Gelenkkapsel wurde sowohl bei allen Tieren der RI- (3/3) als auch der TI1-Gruppe (2/2, die Gelenkkapsel des dritten Tieres wurde versehentlich nicht bewertet) als leicht verändert eingestuft (RI: 34.03, 34.04, 34.08; 100%; TI1: 34.23, 34.26; 100%) während die Veränderungen der Gelenkkapsel in der TI2-Gruppe bei 1/3 Tieren als geringgradig (34.22; 33,3%), bei 2/3 (34.24, 34.27; 66,7%) als mittelgradig bewertet wurden.
- Makroskopisch sichtbare Abriebpartikel konnten bei keinem der drei Tiere der RI-Gruppe (34.03, 34.04, 34.08; 100%) gefunden werden, wohingegen bei 3/3 Tieren der TI1-Gruppe (34.13, 34.23, 34.26; 100%) eine mittelgradige Menge sichtbarer Abriebpartikel festgestellt wurde. In der TI2-Gruppe konnte bei 2/3 Tieren (34.22, 34.24; 66,7%) eine mittelgradige Menge und bei 1/3 (34.27; 33,3%) eine geringe Menge sichtbarer Abriebpartikel nachgewiesen werden.

Resultate der makroskopischen Evaluation - Tiere für den Versand nach Leeds							
Gruppe	Tier-nummer	umgebendes Weichteilgewebe (um Gelenk und Prothese)		Gelenkkapsel		Abriebpartikel	
		Score	Kommentare	Score	Kommentare	Score	Kommentare
Unbeschichtetes CoCrMo (RI)	34.03	1	vergrössert wie 12 Wochen post OP erwartet, nicht entzündlich	1	verdickt wie erwartet, nicht entzündlich	0	-
	34.04	1	vergrössert wie 12 Wochen post OP erwartet, nicht entzündlich	1	verdickt wie erwartet, nicht entzündlich	0	-
	34.08	0	vergrössert wie 12 Wochen post OP erwartet, nicht entzündlich	1	verdickt wie erwartet, nicht entzündlich	0	-
Gruppe total		2		3		0	
Mittelwert Gruppe (Ø)		0.67		1.00		0.00	
Titan beschichtet (TI 1)	34.13	2	starke Fibrose im Bereich der Naht inkl. Mineralisation, Metallose lateral		-	2	lateral in der Gelenkkapsel Abriebpartikel sichtbar, zusätzlich auch oberflächlich entlang der Naht
	34.23	1	Metallose lateral und medial	1	-	2	lateral und medial Abriebpartikel sichtbar
	34.26	1	Abriebpartikel in den Lymphgefässen sichtbar (Position: mediaer Kondylus des Femur); Metallose lateral am Knie	1	Metallose sichtbar lateral und cranial in der Gelenkkapsel	2	sichtbare Abriebpartikel in Lymphgefässen und der Gelenkkapsel
Gruppe total		4		2		6	
Mittelwert Gruppe (Ø)		1.33		1.00		2.00	
CoCrMo beschichtet (TI 2)	34.22	1	Metallose: medial mehr als lateral	1	-	2	medial mehr sichtbar als lateral (im Weichteilgewebe)
	34.24	2	Metallose lateral und medial	2	-	2	sichtbare Abriebpartikel lateral und medial
	34.27	1	wie 12 Wochen nach der OP erwartet	2	verdickte Kapsel, leichte Metallose lateral	1	lateral in der Gelenkkapsel
Gruppe total		4		5		5	
Mittelwert Gruppe (Ø)		1.33		1.67		1.67	

Tab. 5.7: Makroskopische Beurteilung der Kniegelenke der Tiere, welche für den Versand nach Leeds bestimmt waren

5.6.3 Entnahme der restlichen Kniegelenke und makroskopische Bewertung

Bei 19 Tieren konnten alle Gewebeproben (Synovialmembran, Synovia, Patella mit Bändern und Kniefettkörper) der Kniegelenke komplikationslos entnommen werden.



Abb. 5.9: Patella mit Bändern und Kniefettkörper des rechten Beines von Tier 34.11

Die Menge von Synovialflüssigkeit war bei den unbehandelten Negativkontrollbeinen oftmals aufgrund zu kleiner Mengen nicht möglich und gilt als physiologisch. An den verschiedenen Geweben der Kniegelenke der untersuchten Tiere konnten Veränderungen unterschiedlichen Ausmasses (1 = geringgradige Veränderungen, 2 = mittelgradige Veränderungen, 3 = hochgradige Veränderungen) festgestellt werden: im umgebenden Weichteilgewebe, der Gelenkkapsel, Synovialmembran, der Synovia und an Femur- und Tibiaprothese. Des Weiteren wurde das Vorkommen der Abriebpartikel analysiert (Einzelheiten siehe Tab. 5.8 und Tab. 5.9).

Von den drei untersuchten Gruppen zeigten die Proben der RI-Gruppe die besten Resultate mit den wenigsten makroskopischen Veränderungen, gefolgt von den entnommenen Proben der TI2-Gruppe, bei denen weniger Veränderungen festgestellt werden konnten als bei der TI1-Gruppe.

- Das umgebende Weichteilgewebe war bei 2/6 Kaninchen der RI-Gruppe leicht bis mgr. verändert (33,3%; 34.10, 34.11). In der TI1-Gruppe wurde 1/6 Kaninchen mit ggr. Veränderungen des Weichteilgewebes beurteilt (16,7%; 34.35), von weiteren 4/6 war das Gewebe von mittelgradigen bis hochgradigen Veränderungen betroffen (66,7%; 34.20, 34.29, 34.31, 34.34). In der TI2-Gruppe waren bei 4/6 (66,7%; 34.14, 34.17, 34.32, 34.33) Tieren geringgradige und bei einem (16,7%, 34.30) mittelgradige Veränderungen am Weichteilgewebe zu verzeichnen.
- Von geringgradigen bis mittelgradigen Veränderungen an der Gelenkkapsel waren 5/6 Tieren der RI-Gruppe betroffen (83,3%; 34.06, 34.07, 34.09, 34.10, 34.11). Demgegenüber standen die beiden Testimplantat-Gruppen, bei denen jeweils die Gelenkkapseln aller Tiere (6/6, 100%; TI1: 34.15, 34.20, 34.29, 34.31, 34.34, 34.35; TI2: 34.14, 34.17, 34.25, 34.30, 34.32, 34.33) von gering- bis hochgradigen Veränderungen betroffen waren. Im Mittel waren es bei beiden

Gruppen mittelgradige Veränderungen (TI1 Mittelwert: 2,17; TI2 Mittelwert: 2,0).

- Sichtbare Abriebpartikel gab es in und an insgesamt 16/18 Kniegelenken der Kaninchen zu sehen. Ein geringes bis mittelgradiges Auftreten sichtbarer Abriebpartikel war bei 4/6 Tieren der RI-Gruppe der Fall (66,7%; 34.09, 34.10, 34.11, 34.12). Bei der TI1-Gruppe fand sich in 2/4 Fällen (33,3%; 34.29, 34.35) eine mittelgradige Menge, in 4/6 Fällen eine grosse Menge der sichtbaren Abriebpartikel (66,7%; 34.15, 34.20, 34.31, 34.34). In der TI2-Gruppe waren auch bei allen sechs Tieren am Gelenk Abriebpartikel sichtbar: bei zwei Tieren eine geringe (33,3%; 34.17, 34.32), bei einem Tier eine mittlere (16,7%; 34.25) und bei drei Tieren eine grosse Menge (50%; 34.14, 34.30, 34.33).
- An der Synovialmembran zeigten sich bei der Gesamtheit der Tiere aller drei Gruppen (RI, TI1, TI2), Veränderungen unterschiedlichen Ausmasses. In der RI-Gruppe wurden die Synovialmembranen bei 2/6 Tieren als leicht verändert eingestuft (33,3%; 34.07, 34.12), bei den restlichen 4/6 als mgr. verändert (66,7%; 34.06, 34.09, 34.10, 34.11). In der TI1-Gruppe gliederte sich die Bewertung in 1/6 Tiere mit leichten (16,7%; 34.35) und 1/6 mit hochgradigen Veränderungen (16,7%; 34.34). Die anderen 4/6 Tiere hatten mittelgradige Abnormalitäten der Synovialmembran aufzuweisen (66,7%; 34.15, 34.20, 34.29, 34.31). In der TI2-Gruppe war die Verteilung ähnlich wie in der TI1-Gruppe, es gab jedoch ein Tier mehr das mit hochgradigen Veränderungen eingestuft wurde und dafür eines weniger mit mittelgradigen Veränderungen, im Vergleich zur TI1-Gruppe. In Zahlen bedeutet das, dass es 1/6 Tieren mit leichten (16,7%; 34.32), 3/6 mit mittelgradigen (50%; 34.14, 34.17, 34.25) und 2/6 Tieren mit hochgradigen Abnormalitäten (33,3%; 34.30, 34.33) der Synovialmembran gab. Insgesamt war die TI2-Gruppe mit einem Bewertungs-Mittelwert von 2,17 von den meisten Veränderungen betroffen, gefolgt von der TI1-Gruppe mit einem Mittelwert von 2,0 und der RI-Gruppe mit dem Mittelwert 1,67.

Resultate der makroskopischen Evaluation : Tiere für den Verbleib an der UZH							
Gruppe	Tiernummer	umgebendes Weichteilgewebe (um Gelenk und Prothese)		Gelenkkapsel		Abriebpartikel	
		Score	Kommentare	Score	Kommentare	Score	Kommentare
Unbeschichtete CoCrMo (RI)	34.06	0	wie erwartet 12 Wochen post OP, nicht entzündlich	2	Gelenkkapsel deutlich verdickt	0	-
	34.07	0	wie erwartet 12 Wochen post OP, nicht entzündlich	1	-	0	-
	34.09	0	wie erwartet 12 Wochen post OP, nicht entzündlich	1	verdickt wie erwartet 12 Wo post OP, nicht entzündlich	1	Metallose
	34.10	2	verdickt, fibrotisch, vermehrt vaskularisiert, kein Hämatom	2	verdickt, Metallose (braune Verfärbung)	2	sichtbare Abriebpartikel lateral und medial an der Tibia
	34.11	1	wie erwartet 12 Wochen post OP, bräunliche Verfärbung lateral am Femurkondylus	1	bräunliche Verfärbung lateral am Femurkondylus	2	Metallose, bräunliche Verfärbung lateral am Femurkondylus
	34.12	0	wie erwartet 12 Wochen post OP	0	wie erwartet 12 Wochen post OP	1	milde Metallose
Gruppe total		3		7		6	
Mittelwert Gruppe (Ø)		0.50		1.17		1.00	
Titan beschichtet (TI 1)	34.15	0	wie erwartet 12 Wochen post OP	1	Kapsel aussen normal, innen diffuse schwarz verfärbt	3	Gelenkhöhle mit sehr vielen schwarzen Abriebpartikeln gefüllt
	34.20	2	Metallose durchdringend durch das Weichteilgewebe bis zur Faszie in der Region der Hautnaht	3	moderate Metallose, multifokal	3	sichtbar an der Crista tibiae
	34.29	3	starke Metallose lateral: Lymphgefäße gefüllt mit Abriebpartikeln, Fibrose	2	moderate Dicke, diffus schwarz verfärbt - insbesondere lateral	2	weniger Abnutzungsveränderungen aufgrund der limitierten Beweglichkeit des Gelenkes
	34.31	2	Abriebpartikel, Metallose multifokal sichtbar im umgebenden Weichteilgewebe inkl. Lymphgefäße	2	ausser schwarze Verfärbung multifokal sichtbar, innen diffus; viele Abriebpartikel, moderate Fibrose, moderat verdickt	3	komplettes Gelenk schwarz verfärbt
	34.34	3	Metallose von aussen fokale sichtbar	3	Gelenkkapsel teilweise mineralisiert; fibrotisch, starke Metallose, diffuse schwarze Verfärbungen	3	Abriebpartikel entlang der Lymphgefäße
	34.35	1	-	2	moderate Fibrose, Abnutzungsveränderungen, Metallose: graue Verfärbung multifokal	2	-
Gruppe total		11		13		16	
Mittelwert Gruppe (Ø)		1.83		2.17		2.67	
CoCrMo beschichtet (TI 2)	34.14	1	wie 12 Wochen nach der OP erwartet, minimale Metallose oberflächlich sichtbar	2	verdickt, fibrotisch, Mineralisation; Innenseite der Gelenkkapsel: massive Metallose (braun-schwarze Verfärbung)	3	Gelenkhöhle mit schwarzen Abriebpartikeln gefüllt
	34.17	1	-	2	moderate Metallose, multifokal	1	-
	34.25	0	medial: in Lymphgefäss sichtbare Abriebpartikel. Leichte sichtbare Metallose an der Knochenoberfläche der Tibia	1	medial: bräunliche Verfärbung der Kapsel	2	-
	34.30	2	Abriebpartikel, sichtbare Metallose multifokal im umgebenden Weichteilgewebe inkl. Lymphgefäße	3	Abriebpartikel, starke Metallose, Fibrose; Kapsel verdickt, graue Verfärbung	3	im Knochen sichtbar: ausgehend vom zementierten Markraum; in der Kapsel; im umgebenden Weichteilgewebe
	34.32	1	keine Metallose	1	-	1	-
	34.33	1	-	3	fokale Metallose in der Gelenkkapsel sichtbar, starke Fibrose	3	-
Gruppe total		6		12		13	
Mittelwert Gruppe (Ø)		1.00		2.00		2.17	

Tab. 5.8: Makroskopische Beurteilung der Kniegelenke der Tiere, welche für den Verbleib an der UZH bestimmt waren – Teil 1

- In der RI-Gruppe war die Synovia bei 5/6 Kaninchen von leichten Veränderungen (83,3%; 34.06, 34.07, 34.09, 34.11, 34.12), beim sechsten Tier von mittelgradigen Veränderungen betroffen (16,7%; 34.10). In der TI2-Gruppe war ein Tier ohne Veränderungen (16,7%; 34.32), eines mit leichten (16,7%; 34.17) und 4/6 mit mittelgradigen Veränderungen (66,7%; 34.14, 34.25, 34.30, 34.33). In der Gruppe mit dem höchsten Score die Synovia betreffend, TI1, war bei 2/6 Tieren die Synovia leicht (33,3%; 34.20, 34.35), bei einem Tier mgr. (16,7%; 34.29) und bei drei Tieren hgr. (50%; 34.15, 34.31, 34.34) verändert. Die Ergebnisse der Auswertung der Synovialflüssigkeit ergaben, dass die Synovia der Tiere aus der RI-Gruppe mit einem Mittelwert (MW) von 1,17 am wenigsten verändert waren, gefolgt von der TI2-Gruppe mit dem MW 1,5 und der TI1-Gruppe mit dem MW 2,17.
- Auch die Prothesenteile (Femur- und Tibiaprotese) wurden hinsichtlich auftretender Abnormalitäten bewertet. Abnormalitäten äusserten sich bei den Prothesen entweder in Oberflächenveränderungen (z.B. Absplitterungen der Beschichtung an der Artikulationsfläche), im Verlust des festen Sitzes der Prothese, also einer Lockerung, oder auch in einem interkondylären, fibrotischen

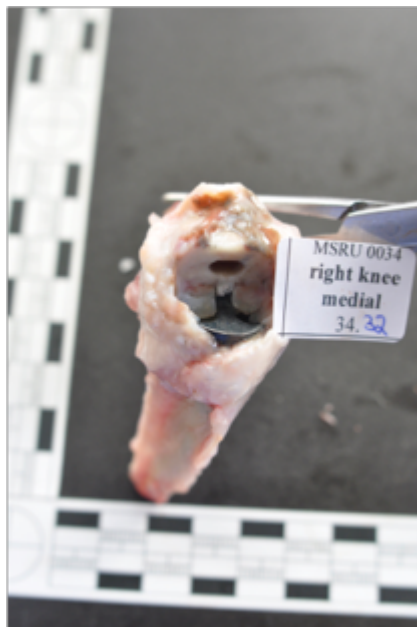


Abb. 5.10: : Fibrotischer Überwuchs des caudalen Tibia-implantates bei Tier 34.32

Überwuchs auf Prothesenteilen (siehe Abb. 5.10). In der RI-Gruppe wurden bei 2/6 Tieren geringe Abnormalitäten festgestellt (33,3%; 34.06, 34.07), bei den restlichen 4/6 Tieren gab es keine Beanstandungen. In der TI1 Gruppen waren die Femurprothesen aller sechs Tiere von hochgradigen Veränderungen betroffen (100%; 34.15, 34.20, 34.29, 34.31, 34.34, 34.35), in der TI2-Gruppe gab es neben 5/6 Tieren die mit hochgradigen Veränderungen an der Femurprothese eingestuft wurden (83,3%; 34.14, 34.25, 34.30, 34.32, 34.33) auch ein Tier, welches mittelgradige Veränderungen aufwies (16,7%; 34.17).

- Die Bewertungen die Tibiaprotese betreffend, ergab bei der RI-Gruppe den MW 0, bei der TI1-Gruppe MW 2,5 und TI2 MW 2,0. Dementsprechend waren

alle sechs Tibiaprothesen der Tiere aus der RI-Gruppe frei von Abnormalitäten (100%; 34.06, 34.07, 34.09, 34.10, 34.11, 34.12). In der TI1-Gruppe gab es jeweils 1/6 Tiere welches mit geringen (16,7%; 34.29) bzw. mittelgradigen Veränderungen (16,7%; 34.35) bewertet wurde, die verbleibenden vier Prothesen wiesen hochgradige Veränderungen auf (66,7%; 34.15, 34.20, 34.31, 34.34). In der TI2-Gruppe gab es jeweils 1/6 Tiere mit leichten (16,7%; 34.17) und hochgradigen Veränderungen (16,7%; 34.14) an der Tibiaprothese. Die Prothesen der übrigen 4/6 Tiere wiesen mittelgradige Abnormalitäten auf (66,7%; 34.25, 34.30, 34.32, 34.33). Beginnend mit den Resultaten der Femurprothese war der Mittelwert in der RI-Gruppe 0,5, in der TI1-Gruppe 3,0 und in der TI2-Gruppe 2,83. Bei der Tibiaprothese war der Mittelwert in der RI-Gruppe 0, in der TI1-Gruppe 2,5 und in der TI2-Gruppe 2,0.

Resultate der makroskopischen Evaluation bei der Euthanasie									
Gruppe	Tier-nummer	Synovialmembran		Synovia		Femurprothese		Tibiaprothese	
		Score	Kommentare	Score	Kommentare	Score	Kommentare	Score	Kommentare
Unbeschichtetes CoCrMo (RI)	34.06	2	bräunlich verfärbt	1	wenig	1	proximal der Patellargleitrinne der Prothese: fibrotische Kallus-Formation	0	Prothese sitzt gut, keine Veränderungen
	34.07	1	keine Farbveränderungen	1	blutig, wenig	1	proximal des Patellargleitrinne der Prothese: fibrotische Kallus-Formation	0	Prothese sitzt gut, keine Veränderungen
	34.09	2	Metallose, bräunlich verfärbt	1	klar, mukoserös, durchsichtig, etwas mehr Synovia als normal	0	sitzt gut	0	sitzt gut aber schräg implantiert: lateraler Anteil ist weiter distal als medialer
	34.10	2	verdickt	2	trüb, fadenziehend, viskös	0	sitzt gut	0	schräg implantiert, lateraler Anteil ist weiter distal als medialer
	34.11	2	diffus bräunlich verfärbt, nicht verdickt	1	gelblich-rötlich, vermehrt, verdickt, viskös, mukoserös	0	sitzt gut	0	sitzt gut
	34.12	1	bräunlich verfärbt	1	serosanguinös, vermehrt, viskös, klar, verdickt	0	leichte Arthrose proximal der Patellargleitrinne der Prothese	0	-
Gruppe total		10		7		2		0	
Mittelwert Gruppe (Ø)		1.67		1.17		0.33		0	
Titan beschichtet (TI 1)	34.15	2	sehr viele Abriebpartikel vorhanden, nicht verdickt	3	bräunlich - blutig, viskös, mehr Synovia	3	Abnutzungsveränderungen medial und lateral, Beschichtung teils abgesplittert, fibröse Überwuchs am Kondylus-Anteil der Prothese (ventral)	3	Abnutzungsveränderungen med.&lat., Beschichtung teilweise abgesplittert
	34.20	2	-	1	etwas mehr Synovia, rötlich verfärbt, viskös	3	starke Abnutzungsveränderungen: bilateral am Femurkondylus, Tibiaplateau, Patellargleitrinne, Prothesensitz normal	3	am Kondylus bilaterale fibröse Kapsel, Prothesensitz gut, starke Metallose: Abriebpartikel vom Stamm der Prothese (im Knochenmark positioniert) an der Aussenseite des Knochens sichtbar
	34.29	2	moderat verdickt	2	moderat erhöhte Menge Synovia, rötlich verfärbt, viskös	3	Prothese locker; Schwierigkeiten beim Strecken durch Überwuchs von fibrösem Gewebe zwischen den Kondylen; Constraint der Tibiaprothese zu weit caudal, keine sich berührende, artikulierende Fläche zwischen den beiden Prothesenteilen, deshalb fast keine Abnutzungsspuren	1	guter Sitz, Prothese nach kaudal verlagert wegen interkondylärem fibrösem Überwuchs; Constraint der Tibiaprothese zu weit caudal, keine sich berührende, artikulierende Fläche zwischen den beiden Prothesenteilen, deshalb fast keine Abnutzungsspuren
	34.31	2	sehr viele Abriebpartikel, Metallose, schwarze Verfärbung, moderat verdickt	3	mehr Synovia als normal, schwarz verfärbt, viskös	3	Osteophytenformati proximal der Patellargleitrinne, starke Abnutzungsveränderungen, Prothesensitz nicht gut, eher locker -> konnte leicht herausgezogen werden	3	starke Abnutzungsveränderungen, Prothesensitz gut, Osteophytenformation auf der Crista tibiae
	34.34	3	starke Metallose, Synovialmembran verdickt, diffus Abriebpartikel vorhanden, schwarz verfärbt	3	mehr Synovia als normal, schwarz verfärbt, viskös	3	Prothese sitzt gut, kein Zementversagen, starke Abnutzungsveränderungen	3	Prothese sitzt gut, keine Lockerung; starke Abnutzungsveränderungen
	34.35	1	Abriebpartikel, multifokal braun-grau verfärbt	1	etwas mehr Synovia als normal, rötlich verfärbt, viskös	3	starke Abnutzungsveränderungen: Verfärbung der Patellargleitrinne (Ablagerungen), Fibrose rund um die Femurkondylen, verminderte Beweglichkeit, Osteophytenformation, Prothese sitzt gut	2	starke Abnutzungsveränderungen, Prothesensitz gut, Verfärbung (Abrieb)
Gruppe total		12		13		18		15	
Mittelwert Gruppe (Ø)		2.00		2.17		3.00		2.50	
CoCrMo beschichtet (TI 2)	34.14	2	Abriebpartikel sichtbar, nicht verdickt	2	bräunlich, viskös, mehr Synovia als normal	3	Abnutzungsveränderungen med.&lat., Beschichtung teilweise abgesplittert, fibröse Kapsel rund um die Kondylen der Prothese (ventral)	3	Gegenstück zur Femurprothese: lat. & med. Abnutzungsveränderungen, Beschichtung teilweise abgesplittert, Prothesensitz gut
	34.17	2	multifokal bräunlich verfärbt	1	viskös, fadenziehend, etwas mehr Synovia als normal	2	normale Position, Patellargleitrinne: weissliche Ablagerungen, Favella ossifiziert und mit Tibiaprothese verwachsen; Patellargleitrinne: moderate Abnutzungsveränderungen	1	Position normal, leichte Abnutzungsveränderungen (Debris) am Constraint und Tibiaplateau
	34.25	2	diffus bräunlich verfärbt, moderat verdickt	2	rötlich verfärbt, viskös, moderat vermehrte Menge Synovia	3	Prothese locker, wurde durch fibröses Gewebe in Position gehalten; starke Abnutzungsveränderungen an beiden Kondylen	2	Gegenpart zu Femurkondylen: auch starke Abnutzungsveränderungen auf beiden Seiten; Prothese sitzt gut
	34.30	3	Abriebpartikel, diffus braun-grau verfärbt, leicht verdickt	2	mehr Synovia als normal, rötlich verfärbt, viskös	3	neue Formation: reichlich Osteophyten proximal der Patellargleitrinne, starke Abnutzungsveränderungen, Prothesensitz gut	2	starke Abnutzungsveränderungen, Prothesensitz gut, nicht locker
	34.32	1	Metallose, multifokal bräunlich verfärbt	0	keine Synovialflüssigkeit	3	Prothese locker, Beschichtung lose, starke Abnutzungsveränderungen, Patellargleitrinne: weisslich, diffuse Ablagerungen; Beweglichkeit des Gelenkes eingeschränkt durch Fibrose über den Femurkondylen der Prothese	2	Prothese sitzt gut; starke Abnutzungsveränderungen
	34.33	3	diffuse Metallose	2	mehr Synovia als normal, gelb-rot verfärbt, viskös	3	starke Abnutzungsveränderungen an der Artikulationsfläche, Patellargleitrinne verfärbt, Prothesensitz gut	2	Prothese sitzt gut, keine Lockerung; starke Abnutzungsveränderungen
Gruppe total		13		9		17		12	
Mittelwert Gruppe (Ø)		2.17		1.50		2.83		2.00	

Tab. 5.9: Makroskopische Beurteilung der Kniegelenke der Tiere, welche für den Verbleib an der UZH bestimmt waren – Teil 2

5.6.4 Probenaufbereitung

Alle 104 entnommenen Lymphknoten wurden entwässert und in Paraffin eingebettet. Die Herstellung der Dünnschnitte sämtlicher Weichteilgewebeproben verlief erfolgreich. Ebenso verlief die Einbettung der Kniegelenke in MMA und die nach der Aushärtung erfolgte Dickschnittanfertigung (auch für die Fluoreszenz) nach Plan und ohne nennenswerte Besonderheiten. Die Anfertigung der Dickschnitte, besonders derer des rechten, operierten Kniegelenkes, nahm sehr viel Zeit in Anspruch.

5.7 Histologische Auswertung

5.7.1 Popliteale und inguinale Lymphknoten

Die Daten der semiquantitativen Auswertung können der Tabelle 9.2 im Anhang entnommen werden. Histologisch lässt sich zusammenfassend sagen, dass zwischen den drei Gruppen (Referenzimplantat und Testimplantate 1 und 2) keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden konnten.

- Der grösste Anteil, 61,5% (32/52), der ausgewerteten poplitealen Lymphknoten wies ggr. Strukturveränderungen auf. In der Testimplantat 1-Gruppe (TI1-Gruppe) hatten 6/9 Tiere an den Lnn. poplitei (66,7%; 34.15, 34.20, 34.23, 34.26, 34.31, 34.35) ggr. Strukturveränderungen, in der Testimplantat 2-Gruppe (TI2-Gruppe) ebenso die Lnn. von 6/9 Tieren (66,7%; 34.22, 34.24, 34.27, 34.30, 34.32, 34.33). In der Kontrollgruppe mit dem Referenzimplantat hingegen waren nur bei 4/9 Tieren (44,4%; 34.04, 34.07, 34.08, 34.10) die Lnn. von geringgradigen Veränderungen betroffen. Bei einzelnen Tieren der TI1-Gruppe (22,2%; 34.29, 34.34) und einem Tier (11,1%; 34.14) der TI2-Gruppe wurden mittel- bis hochgradige Strukturveränderungen in den Popliteallymphknoten festgestellt. Bei den regional weiter entfernten inguinalen Lymphknoten wurde der grösste Anteil, 65,4% (34/52), als frei von Strukturveränderungen beurteilt. Bei 3/9 Tieren der TI1-Gruppe (33,3%; 34.29, 34.34, 34.35) und 5/9 Tieren der TI2-Gruppe (55,6%; 34.14, 34.24, 34.27, 34.30, 34.32) konnten ggr. Strukturveränderungen der inguinalen Lymphknoten festgestellt werden, während in der Kontrollgruppe (Referenzimplantat) nur 2/9 Tiere (22,2%; 34.07, 34.08) von geringgradigen Strukturveränderungen betroffen waren.

- Entzündungszellen waren im Grossteil der poplitealen und inguinalen Lymphknoten aller Gruppen, nämlich in 83,7% (87/104), nicht zu finden. Bei einzelnen Tieren wurde jedoch eine geringe Anzahl fokal auftretender Entzündungszellen gefunden. Die Popliteallymphknoten betreffend war dies bei 1/9 Tieren der TI1-Gruppe (11,1%; 34.14), bei 2/9 Tieren der TI2-Gruppe (22,2%; 34.24, 34.27) und bei 3/9 Tieren der RI-Gruppe (33,3%; 34.07, 34.08, 34.10) der Fall. Bei den Inguinallymphknoten war in den TI-Gruppen jeweils 1/9 Tieren (TI1: 34.34; 11,1%; TI2: 34.24; 11,1%) und in der RI-Gruppe 2/9 Tiere (22,2%; 34.07, 34.08) von fokal auftretenden Entzündungszellen betroffen.
- Fremdmaterial in Form von Abriebpartikeln hingegen wurden bei den Tieren mit den beiden Testimplantaten in 34/36 (94,4%) poplitealen, und 26/36 (72,2%) inguinalen Lymphknoten beider Seiten beschrieben. Die Fremdpartikel waren sowohl frei als auch in Makrophagen gebunden vorzufinden. Bei den Tieren der Referenzgruppe wurden in 14/16 (87,5%) poplitealen Lnn. und in 16/16 (100%) der inguinalen Lnn. keine Fremdpartikel entdeckt (siehe Tab. 9.2). Mithilfe des entwickelten Scoresystems wurden dann die Lnn., in denen Abriebpartikel gefunden wurden, noch genauer hinsichtlich Menge der Partikel extra- und intrazellulär bewertet. (siehe Tab. 9.2).
 - In den Popliteallymphknoten der TI1-Gruppe waren bei 7/9 Tieren (77,8%; 34.15, 34.23, 34.26, 34.29, 34.31, 34.34, 34.35) mittelvieles bis viele extrazelluläre Fremdpartikel nachweisbar. In der TI2-Gruppe wurden bei 4/9 Tieren (55,6%; 34.25, 34.27, 34.30, 34.32%) mittelvieles bis viele extrazelluläre Fremdpartikel nachgewiesen. Bei 1/9 (11,1%; 34.12) Tieren der RI-Gruppe wurden wenige Fremdpartikel im extrazellulären Raum gefunden. In den Inguinallymphknoten wurden mittelvieles extrazelluläre Fremdpartikel bei 3/9 Tieren (33,3%; 34.15, 34.29, 34.34) der TI1-Gruppe und bei 1/9 Tieren (11,1%; 34.30) der TI2-Gruppe nachgewiesen. In der RI-Gruppe gab es keine extrazellulären Fremdpartikel.
 - In den Popliteallymphknoten der TI1-Gruppe waren bei 7/9 Tieren (77,8%; 34.15, 34.23, 34.26, 34.29, 34.31, 34.34, 34.35) mittelvieles bis viele intrazelluläre Fremdpartikel nachweisbar. In der TI2-Gruppe waren es 5/9 Tiere (55,6%; 34.14, 34.25, 34.27, 34.30, 34.32), bei denen

mittelviele bis viele intrazelluläre Fremdpartikel vorhanden waren. Bei 1/9 Tieren (11,1%; 34.12) der RI-Gruppe wurden wenige Fremdpartikel im intrazellulären Raum gefunden. Die Inguinallymphknoten betreffend wurden mittelviele bis viele intrazelluläre Fremdpartikel bei 3/9 Tieren (33,3%; 34.15, 34.29, 34.34) der TI1-Gruppe und bei und bei 1/9 Tieren (11,1%; 34.30) der TI2-Gruppe nachgewiesen. In der RI-Gruppe gab es keine intrazellulären Fremdpartikel.

5.7.2 Synovialmembranen

In Tab. 5.10 sind die Ergebnisse der semiquantitativen Auswertung der Synovialmembranen ersichtlich.

Testimplantat 1:		Titanbeschichtete Knieprothese implantiert in das rechte Hinterbein																	
Testimplantat 2:		CoCrMo-beschichtete Knieprothese implantiert in das rechte Hinterbein																	
Zeitraum bis zur Bewertung:		12 Wochen																	
Referenzimplantat:		CoCrMo unbeschichtete Knieprothese implantiert in das rechte Hinterbein																	
Tiernummer		Testimplantat 1 (Titanbeschichtet)						Testimplantat 2 (CoCrMo-beschichtet)						Referenzimplantat (CoCrMo unbeschichtet)					
		34.15	34.20	34.29	34.31	34.34	34.35	34.14	34.17	34.25	34.30	34.32	34.33	34.06	34.07	34.09	34.10	34.11	34.12
1. Entzündung																			
Polymorphonukleäre		0	0	0	2	0	0	0	0	1	0	1	1	na	na	0	0	0	0
Eosinophile		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	na	na	0	0	0	0
Lymphozyten		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	na	na	0	0	0	0
Plasmazellen		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	na	na	0	0	0	0
Makrophagen		3	3	2	3	4	2	2	1	3	2	3	3	na	na	2	1	0	1
Riesenzellen		2	2	1	2	2	1	2	1	2	1	1	1	na	na	1	0	0	0
Nekrose		1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	na	na	0	0	0	0
Zwischensumme		7	5	3	8	7	3	4	2	7	3	7	7	na	na	3	1	0	1
Zwischensumme (x2)		14	10	6	16	14	6	8	4	14	6	14	14	na	na	6	2	0	2
2. Umbauvorgänge																			
Neovaskularisation		3	2	2	3	3	2	2	1	3	2	3	4	na	na	2	2	1	1
Anzahl ortstypischer Zellen		3	3	2	3	4	3	3	2	4	3	3	4	na	na	1	1	1	1
Hyperplastische Synoviozyten		3	3	2	3	4	3	3	2	3	3	3	4	na	na	2	2	2	2
F.2 Zwischensumme		9	8	6	9	11	8	8	5	10	8	9	12	na	na	5	5	4	4
Summe total (1.+2.)		23	18	12	25	25	14	16	9	24	14	23	26	na	na	11	7	4	6
Summe der Gruppen total		117						112						28					
Mittelwert (Ø)		19.5 (Ø TI1-RI= 12.5)						18.67 (Ø TI2-RI= 11.67)						7					
Abriebpartikel		3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	na	na	3	3	3	3
Anzahl der Abriebpartikel, falls vorhanden		3	3	2	3	3	2	2	1	2	2	3	3	na	na	2	2	1	1
* Wird zur Ermittlung der Rangwertung für Reaktionen des Gewebes, unten als Schlussfolgerung dargestellt, verwendet. Eine negative Differenz wird als Null registriert.																			
Schlussfolgerung: Unter den Bedingungen dieser Studie wurde die Reaktion des Gewebes auf das Testimplantat 1 wie folgt bewertet:										Schlussfolgerung: Unter den Bedingungen dieser Studie wurde die Reaktion des Gewebes auf das Testimplantat 2 wie folgt bewertet:									
___ minimale oder keine Reaktion (0.0 bis 2.9); ___ ggr. Reaktion (3.0 bis 8.9); x mgr. Reaktion (9.0 bis 15.0); ___ hgr. Reaktion (>15.1)										___ minimale oder keine Reaktion (0.0 bis 2.9); ___ ggr. Reaktion (3.0 bis 8.9); x mgr. Reaktion (9.0 bis 15.0); ___ hgr. Reaktion (>15.1)									
im Vergleich zum Referenzimplantat.										im Vergleich zum Referenzimplantat.									

Tab. 5.10: Auswertungen der Synovialmembranen des rechten Knies, eingeteilt nach Gruppen (TI1, TI2, RI)

Zusammenfassend liess sich eine mittelgradige Reaktion des Gewebes auf beide Testimplantate im Vergleich zum Referenzimplantat feststellen.

- 1/6 Tiere der TI 1-Gruppe (16,7%; 34.31) und 3/6 Tiere der TI 2-Gruppe (50%; 34.25, 34.32, 34.33) wiesen eine gering- bis mittelgradig erhöhte Anzahl an polymorphonukleären Zellen auf, was für einen aktiven, geringgradigen Entzündungsprozess spricht.

- Die Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen wurde in einer erhöhten Anzahl bei allen Tieren (100%) der beiden Testimplantatgruppen festgestellt, was ein Hinweis auf einen chronischen Gewebeumbau (Heilung, Biodegradation) ist. Eine leicht erhöhte Anzahl an Makrophagen wurde ebenfalls bei 3/4 Tieren (75%; 34.09, 34.10, 34.12) der RI-Gruppe nachgewiesen.

Die Umbauvorgänge in Synovialmembranen wurde anhand von Neovaskularisation, Anzahl der ortstypischen Zellen und Vorhandensein hyperplastischer Synovialzellen bewertet.

- Alle Tiere der Testimplantatgruppen wiesen eine gering- bis hochgradige Neovaskularisation sowie eine erhöhte Anzahl der ortstypischen Zellen auf, was auf einen deutlichen Gewebeumbau hindeutet. Eine gering- bis mittelgradige Neovaskularisation und erhöhte Anzahl der ortstypischen Zellen wurde auch bei den Kontrolltieren (RI-Gruppe) gefunden.
- Die hyperplastischen Synoviozyten wurden in mittel- bis hochgradigem Ausmass bei allen Tieren der TI 1 und 2 Gruppe festgestellt sowie im mittleren Ausmass bei allen Kontrolltieren, was für einen aktiven Vorgang im Gelenk spricht.

5.7.3 Fluoreszenzschnitte

Die Fluoreszenzschnitte waren für die Auswertung brauchbar. Mittels der zu Lebzeiten subkutan verabreichten Fluoreszenzfarbstoffe waren die Knochenumbauvorgänge vier, acht und zwölf Wochen nach der Operation gut zu differenzieren (siehe Abb. 9.1). Das nicht operierte Kniegelenk hatte ein Maximum des Knochenumbaus bzw. –aufbaus vier Wochen post OP aufzuweisen, zu den anderen beiden Zeitpunkten war der Knochenumbau minimal. Am operierten Kniegelenk mit der Prothese hingegen konnte zu allen drei Zeitpunkten intensives Remodelling festgestellt werden, am meisten zwölf Wochen nach der Operation.

5.7.4 Toluidinblau gefärbte Dickschnitte

Das Anfärben der verschiedenen Gewebe in den histologischen Dickschnitten war gut durchführbar. Auch das Einlesen und Speichern der Schnitte als Bilder auf den Computer war ohne Probleme möglich. Es konnte anhand der Schnitte von rechten Kniegelenken mit Prothesen gut bestimmt werden, wo sich der Zement befunden hatte

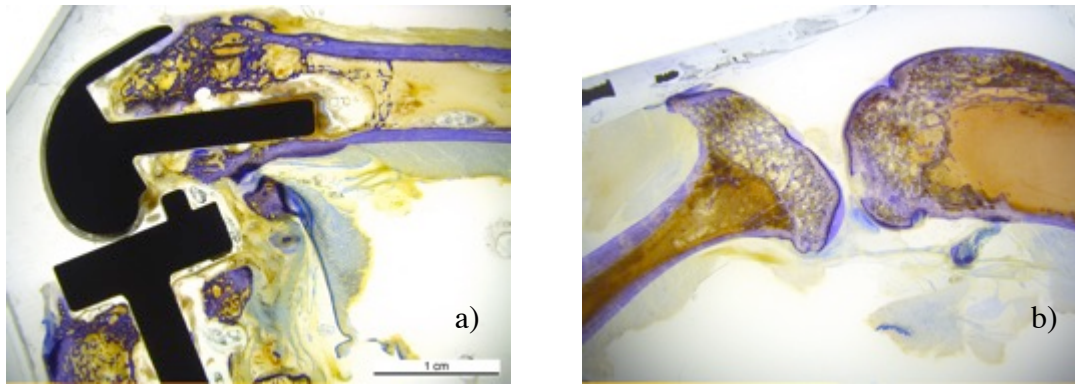


Abb. 5.11: Histologische, toluidinblau gefärbte Dickschnitte von Kniegelenken
a) rechtes Kniegelenkes inkl. Knie-Endoprothese von Tier 34.01
b) linkes Kniegelenk von Tier 34.10

und ob die Prothese in situ war. Ein intensiver Knochenauf-/ und umbau konnte zweifelsfrei bestimmt werden, da der neu gebildete Knochen sich in königsblauer Färbung von dem alten violettbläulich gefärbten Knochen abhob. Die Schnitte der unbehandelten linken Kniegelenke wurden ebenso eingelesen und begutachtet, ein Knochen-Remodelling konnte bei diesen jedoch nur geringfügig ausgemacht werden.

5.8 Zusammenfassung der Resultate

Es wurden bei 34/35 Kaninchen Knieendoprothesen implantiert, ein Tier starb bereits im Rahmen der Anästhesieeinleitung. 28 von diesen 34 Tieren vollendeten planmässig den zwölfwöchigen Beobachtungszeitraum (1 Tier des Vorversuches und 27 Tiere der Hauptstudie). Durch Zuhilfenahme der eigens angefertigten Schneidlehre konnte die Implantation der Prothese reproduzierbar und standardisiert durchgeführt werden. Durch fluoroskopische Kontrolle wurde der richtige Sitz der Prothesen verifiziert, bevor die chirurgische Wunde verschlossen wurde. Der korrekte Sitz konnte auf den Röntgenaufnahmen im Verlauf des Nachuntersuchungszeitraums (dreimal im Abstand von vier Wochen bei allen 28 Tieren), auf Mikro-Radiographien sowie der makroskopischen Kontrolle post mortem (bei 19/28 Tieren – da nur bei diesen 19 das Kniegelenk eröffnet wurde) bestätigt werden. Während des gesamten Versuchszeitraumes gab es nur bei einem Tier Entzündungsanzeichen an der Wunde (34.26), der Heilungsprozess verlief bei den übrigen Tieren ohne Beanstandungen. Zwischen den verschiedenen Beschichtungen der Prothese konnte, die Implantation betreffend, kein Unterschied festgestellt werden. Die aufgetretenen Luxationen der Knieprothesen hatten klinisch keine Auswirkungen, die Tiere bewegten sich trotzdem

gut und zeigten keine vermehrten Anzeichen von Schmerzhaftigkeit im Vergleich zu den Tieren ohne Luxation. Die Kniegelenke von neun Tieren wurden post mortem ungeöffnet an die Projektpartner in Leeds versendet. Somit verblieben für die makroskopische, mikroradiographische sowie histologische Bewertung der Gelenke 19 Tiere (1 Tier des Vorversuches und 18 Tiere der Hauptstudie). Beim Sacrifice wurde ersichtlich, dass bei einigen Tieren die Zementfixation nicht ausreichend hielt und die Femurprothese locker war. Sie konnte bei 21% der Tiere (4/19: 34.25 (TI2), 34.29 (TI1) (TI1), 34.31, 34.32 (TI2)) ohne Kraftanstrengung aus dem Femur entfernt werden.

6 Diskussion

In der vorliegenden Studie sollte folgende Fragestellung untersucht werden:

- Ist das Kaninchen als Tiermodell für Kniegelenkprothesen geeignet?
- Ist das Tiermodell geeignet, um Abriebpartikel zu gewinnen und zu untersuchen?
- Ist das Tiermodell geeignet, um die Eignung von Beschichtungen für Gelenkprothesen zu testen?
- Ist das Tiermodell geeignet, um die Biokompatibilität von Beschichtungen zu testen?

6.1 Ziel der Studie

Den Kaninchen wurden Vollendoprothesen als Kniegelenkersatz implantiert, die sich im verwendeten Material (3) unterschieden. Zum Einsatz kamen Prothesen bestehend aus unbeschichtetem und beschichtetem CoCrMo sowie aus beschichtetem Titan. Die Implantation verlief problemlos und erfolgreich. Es war somit die Implantation der ersten eigens für Kaninchen angepassten Knievollprothese. In früheren Studien in der Literatur war die prinzipielle Eignung des Kaninchens als Modell für Knieendoprothesen aufgezeigt worden. Es kamen in den früheren Studien einerseits Endoprothesen für gesetzte Knochendefekte zum Einsatz und andererseits wurden Hemiarthroplastien des Kniegelenks am Kaninchen vollzogen^{79,80}, was beides der vorliegenden Studie als Grundstein diente. Die Grundvoraussetzungen zur Beantwortung der Leitfragen konnte mit den durchgeführten Operationen geschaffen werden. Durch in der hier durchgeführten Studie nachgewiesene, gute Interaktion der Prothesenteile miteinander ist es zudem möglich, Aussagen über die mögliche Eignung einer Beschichtung zu treffen. Die Eignung kann abgesehen von der Operationstechnik und dem klinischen Verlauf auch durch Bestimmung der Quantität generierter Abriebpartikel evaluiert, und gegebenenfalls bestätigt werden. Dies ist wegen des gesteigerten Forschungsinteresses im Bereich der Materialoptimierung von Prothesen^{36,37} ein zusätzlicher Nutzen der aus dieser Studie resultiert.

Ungeachtet der Eigenschaften der Beschichtungen in der vorliegenden Arbeit, fiel auf, dass die Gewebeverträglichkeit der Prothesen aus unbeschichtetem CoCrMo (RI) insgesamt am besten war, gefolgt von beschichtetem CoCrMo (TI2). Die schlechtesten Resultate hinsichtlich Gewebeverträglichkeit hatte die Gruppe mit den beschichteten Titan Implantaten (TI1). Diese Ergebnisse stimmen mit den Erkenntnissen mehrerer

Studien überein, in welchen die Eigenschaften sowie Gewebeverträglichkeiten von CoCrMo untersucht und mit denen von Titan in Relation gesetzt wurden⁸¹⁻⁸³. Über die Beschichtungen können keine Aussagen getroffen werden, da sie Gegenstand eines weiteren Forschungsprojektes sind, jedoch kann gesagt werden, dass die Beschichtungsverfahren an sich noch grosses Forschungspotential bieten, da die Adhäsion im hier beschriebenen Projekt nicht zufriedenstellend war.

6.2 Tiermodell

Die Grundlagen vieler Forschungserkenntnisse in der Medizin und im Zuge dessen auch die resultierenden Therapieansätze, sind nur mit Hilfe von experimentellen Tierversuchen zu erarbeiten. Aufgrund der eingeschränkten Möglichkeit, neue Prothesen/-materialien am Menschen zu testen nehmen Tiermodelle eine wichtige Stellung ein. Wichtig bei der Auswahl der Spezies für den Versuch sind ökonomische Überlegungen, Durchführbarkeit des Versuchs und die Reproduzierbarkeit der Abläufe und ihrer Ergebnisse. Versuche sind kaskadenartig aufgebaut, man tastet sich von phylogenetisch tiefer stehenden Tieren für Kurzzeitstudien -im Erfolgsfall- vor zu phylogenetisch höher stehenden Spezies für Langzeitstudien. Vor allem gegen Ende einer Kaskade ist es wichtig, dass die Ausgangssituation des Tieres, dem Menschen so ähnlich wie möglich ist. Das Kaninchen ist ein gebräuchliches Tiermodell im Bereich der orthopädischen Forschung^{55,57,59,61,63-78}. Oft liefert es wichtige Erkenntnisse vor der Anwendung von Methoden oder Materialien im Modell mit grösseren Tieren, sozusagen als Vorversuch. Dies ist auch als durchaus sinnvoll zu erachten, ruft man sich in Erinnerung dass die Mikrostruktur des Kaninchenknochens sehr von der des Menschen abweicht^{56,57}. Auch der Knochenumbau beim Kaninchen ist nicht mit dem des Menschen zu vergleichen da er wesentlich schneller vonstatten geht⁵⁹⁻⁶¹. Dies muss berücksichtigt werden und macht die Übertragung der Ergebnisse von orthopädischen Studien (v.a. Frakturheilungen betreffend) auf den Menschen sehr schwierig. Eine Studie von Aerssens et al. untersuchte die Unterschiede in Knochenzusammensetzung, -dichte, und -qualität zwischen verschiedenen Spezies (Mensch, Hund, Schaf, Schwein, Kuh und Huhn). Die meisten Gemeinsamkeiten der Knochenstruktur konnten zwischen Mensch und Hund festgestellt werden⁸⁴, wobei die Knochenheilung beim Hund auch etwa dreimal so schnell verläuft als beim Menschen. Der Hund wäre somit als geeignetes Tiermodell rein von der Knochenstruktur her gesehen zu nennen. Bedenken muss man hierbei jedoch, dass es in westlichen Kulturkreisen zu Kollisionen mit ethischen

Grundsätzen kommen kann, da der Hund vielerorts ein geschätztes Familienmitglied darstellt. Es gibt also nicht die richtige Entscheidungsfindung per se, es ist vielmehr ein Abwägen mehrerer Aspekte und das Setzen subjektiver Prioritäten. Der Fokus der vorliegenden Studie war vor allem darauf gerichtet ein Modell zu schaffen, welches sich zum Testen von Endoprothesen mit möglichen Beschichtungen eignet. Dazu war eine normale Benutzung der Gliedmasse inkl. Knieprothese notwendig, sodass die Prothesenteile mechanisch interagieren und Abnützungen festgestellt werden können. Studien zum Bewegungsmuster und -ablauf des Kaninchens liessen bereits im Vorfeld annehmen dass dies der Fall ist^{74,85}. Es gelang mit dem dieser Studie zugrunde liegenden Modell ein adäquates Belastungsprofil zu simulieren und daran neu entwickelte Beschichtungen zu testen. Wie es sich zeigte, eignet sich nebst der makroskopischen Begutachtung post mortem eine histologische Analyse der Endoprothese in situ, wie auch des periartikulären Gewebes um die Quantität von Abriebpartikeln sowie die Biokompatibilität der verwendeten Materialien zu bestimmen. In der vorliegenden Arbeit ging es vor allem darum die Eignung der eigens für das Kaninchen entwickelten Knieprothese und die dazugehörige Operationstechnik zu testen. Auf die Eignung der Beschichtung, welche eine Reduktion von entstehenden Abriebpartikeln im Vergleich zu einer Kontrollgruppe bewirken sollte, wird in einer separaten Studie eingegangen.

6.3 Anästhesie

Die Anästhesie war in Effektivität und Ausführbarkeit sehr gut anwendbar und geeignet. Der Todesfall bei der Einleitung (34.28) ist dem normalen Anästhesierisiko zuzuschreiben. Dieses gilt bei Kaninchen, im Vergleich zu Hunden und Katzen, als erhöht^{86,87}. Durch die Loco-Regionalanästhesie der rechten Hintergliedmasse, die bei den ersten sechzehn Tieren durchgeführt wurde (34.01-34.16), konnte die gewünschte Schmerzausschaltung erreicht werden. Die Blockade des N. femoralis wurde in mehreren Studien bereits gezeigt und kommt unter anderem bei der totalen Knie-arthroplastie beim Menschen standardisiert zum Einsatz⁸⁸⁻⁹⁰. Bei den Kaninchen dieser Studie führte der propriozeptive Nervenblock jedoch vermehrt zu unphysiologischen Stellungen der Gliedmasse und Luxationen des Kniegelenkes. Deshalb wurde nachfolgend auf die Loco-Regionalanästhesie verzichtet. Die 18/34 Kaninchen (52,9%), bei denen keine Loco-Regionalanästhesie durchgeführt wurde (34.17-34.35), machten überdies in der Aufwachphase subjektiv einen entspannteren und ruhigeren Eindruck als jene 16 Tiere (47,1%), die im Zuge der Lokalanästhesie ihr rechtes Hinterbein weder

spüren noch bewegen konnten (34.01-34.16). Es ist letzten Endes Ermessenssache wie man die Prioritäten setzt: effektive Schmerzausschaltung oder Luxationsrisiko-Minimierung. Fakt ist, dass eine Entscheidung getroffen werden muss und in vorliegender Studie letzterem der Vorzug gewährt wurde. In Zukunft könnte dieser Umstand noch optimiert werden. Denkbar wäre zum Beispiel eine intraartikuläre Infiltration von Lokalanästhetika, die sich in Studien als praktikabel erwiesen hat⁹⁹. Zudem bringt diese Methode den Vorteil mit sich, dass trotz postoperativer Schmerzreduktion die Propriozeption erhalten bleibt.

6.4 Operation und postoperative Phase

6.4.1 Operationen

In vorherigen Studien hatte sich gezeigt, dass die Implantation einer Prothese (Tibia) problemlos durchführbar ist⁹⁹, was sich in vorliegendem Versuch bestätigte. Durch die hier durchgeführte zusätzliche Implantation einer Femurprothese konnte die gut umsetzbare, reproduzierbare Implantationsmethode für die gesamte Knieendoprothese bestätigt werden.

Bei 34/35 Tieren (97,1%) konnten die Operationen planmässig durchgeführt werden. Ausnahme war lediglich Tier 34.28, das bei der Anästhesieeinleitung verstarb. Die entwickelten Schnittlehren, die nach den Operationen des Vorversuches optimiert wurden, waren einfach in der Handhabung und brachten die gewünschten reproduzierbaren Ergebnisse. Die Dauer des chirurgischen Eingriffs nahm im Laufe der Zeit ab, was der zunehmenden Routine der Chirurgen zuzuschreiben war, da u.a. intraoperativ weniger fluoroskopische Bilder nötig waren. Die Operationstechnik ist als anspruchsvoll einzustufen und erforderte die Expertise eines erfahrenen Chirurgen, welcher mit Endoprothetik vertraut ist. Die Tiere wurden sorgsam hinsichtlich Körpergewicht und -grösse für die Studie ausgewählt, da die Prothese nur in einer Einheitsgrösse verfügbar war. Trotzdem fielen bei einem Versuchstier (34.09) intraoperativ zu kleine anatomische Gegebenheiten auf. Durch den Einsatz eines Autotransplantates konnte dennoch ein gutes Implantationsergebnis und im weiteren Verlauf uneingeschränkte Beurteilbarkeit der Untersuchungsergebnisse erzielt werden. Die Auswahl rein anhand von Gewicht und Grösse der Tiere zu treffen könnte durch präoperative bildgebende Verfahren (CT, Radiographie) optimiert werden, wobei die gewonnenen Erkenntnisse wahrscheinlich kaum die Mehrkosten aufwiegen.

Bei einem Kaninchen (34.21) fiel intraoperativ auf, dass dessen Knochen deutlich weicher war, als bei den anderen operierten Tieren. Dies hatte vorerst keinen Einfluss auf den Erfolg der Implantation, jedoch kam es in der postoperativen Phase zu einer Fraktur des Femurs, was als pathologische Fraktur mit der intraoperativ gemachten Beobachtung in Verbindung stehen könnte.

Durch Zementversagen und der damit verbundenen Lockerung der Prothese kam es intra- aber auch postoperativ zu Komplikationen. Bei einem Tier des Vorversuchs (34.02) war es wegen des Zementversagens mit Prothesenlockerung zu einer Luxation des rechten Kniegelenkes gekommen (siehe auch Tab. 5.3). Nach Rücksprache mit dem Hersteller des verwendeten Knochenzementes (Biomet Orthopaedics Switzerland GmbH, Dietikon, Schweiz) konnte die Ursache auf einen Anwendungsfehler beim Anmischen des Zementes zurückgeführt werden. Zukünftig wurde dann wie in der Rücksprache besprochen verfahren. Dadurch wurden bessere Ergebnisse erzielt. Dennoch gab es weiter Prothesenlockerungen die sich entweder intraoperativ bereits manifestierten (34.24) oder als gelockerte Prothesen bei der makroskopischen Untersuchung nach der Tötung auffielen (siehe 6.5 Makroskopische Auswertung). Die Lockerungen könnten mit intramedullären Blutungen in Zusammenhang stehen, dieser Verdacht findet sich auch in der Literatur⁹¹. Ein möglichst trockener Markraum und eine Blutdruckregulierung während der Anästhesie könnten für eine verbesserte Adhäsion des Zementes sorgen.

6.4.2 Postoperative Phase Vor- und Hauptversuch

Von den acht exkludierten Tieren (zwei aus dem Vorversuch und sechs aus der Hauptstudie) waren es nur 2/35 operierte Tiere (5,7%; 34.02, 34.16), deren Ausschluss aus der Studie auf Implantat- oder operationsbezogenen Komplikationen beruhte. Zudem stand die Exklusion von 34.02, aufgrund der Tatsache dass es ein Präliminärtier war, ohnehin schon fest. In der pathologischen Untersuchung des Tieres 34.19 wurde eine Magenruptur durch die Kokzidieninfestation ersichtlich. Dies erklärte rückblickend den schlechten Zustand des Tieres in der Aufwachphase und liefert auch den Grund für den Spontantod. Zusammenfassend kann man also sagen, dass die Operationsmethode gut durchführbar gewesen ist, und als durchaus erfolgreich einzustufen war.

6.4.3 Lahmheitsdiagnostik

Der fibrotische Überwuchs im interartikulären Bereich (siehe Abb. 5.10) der bei einzelnen Tieren festgestellt wurde, fungierte als mechanische Blockade bei der Extension des Gelenkes. Etwaige Blockaden in der Beweglichkeit des Kniegelenks mindern die Aussagekraft hinsichtlich generierter Abriebpartikel enorm. Die Gewährleistung einer überwiegend uneingeschränkten Beweglichkeit ist so vor allem hinsichtlich zukünftiger Einsätze des Tiermodells für Materialtests sowie für den Test von Beschichtungen wesentlich. Durch physiotherapeutische Übungen kann eine positive Entwicklung der Beweglichkeit unterstützt werden (siehe Tier 34.09, 34.22 in Tab. 5.5).

6.5 Makroskopische Auswertung

Die makroskopische Beurteilung war gut möglich. Bei den Tieren mit inkompletter Beweglichkeit ($<110^\circ$) des rechten Kniegelenkes aufgrund eines fibrotischen Überwuchses am Tibiaplateau konnte festgestellt werden, dass weniger Abrieb am Implantat sichtbar war. Durch eine reduzierte Beweglichkeit kommt es folglich zu weniger Interaktion der Implantatkomponenten, was weniger Reibung aufeinander bedeutet. Es wäre wünschenswert, solche Komplikationen zu minimieren. Die Gründe für diesen Überwuchs sind nicht erforscht, mögliche Ursachen sind:

- Eine (Überempfindlichkeits-)Reaktion auf das Polymer des Knochenzementes
- Ein idiopathischer Auslöser für hyperplastisches, fibrotisches Wachstum.

Gerade beim Kaninchen kommt es ohnehin oft zu einer Defektüberbrückung auf Basis einer Fibrose²⁷. In jedem Falle könnte man zukünftig noch besser darauf achten, dass möglichst kein überschüssiger Zement in die Markhöhle eingebracht wird, der im Weiteren zu Gewebereaktionen am umliegenden Weichteilgewebe führen könnte. Zusätzlich wären spezielle physiotherapeutische Ansätze denkbar, wenn bereits eine partielle Versteifung eingesetzt hat.

Nach der Euthanasie wurde bei der Untersuchung der Prothesenteile und umgebender Strukturen ersichtlich, dass bei 4/19 Kaninchen die Femurprothese ohne Kraftanstrengung aus dem Femur entfernt werden konnte. Dieser Umstand fiel nur bei Tieren aus den Testimplantat-Gruppen (TI1: 34.29, 34.31; TI2: 34.25, 34.32) auf. Daher wäre es ein weiterer Forschungsansatz zu ergründen, ob der Knochenzement in Verbindung mit der Beschichtung der Prothese im Vergleich zur unbeschichteten Prothese veränderte Haftungseigenschaften aufweist.

6.6 Probenentnahme und -aufbereitung

Generell verlief die Probenentnahme mit anschliessender Aufbereitung komplikationslos und erfolgreich. Ausnahmen stellten die insgesamt 4/108 Lymphknoten (54 Inguinallymphknoten, 54 Popliteallymphknoten) dar, die nicht aufgefunden werden konnten. Es waren die Lnn. von vier Tieren betroffen, wobei alle vier der Referenzimplantat-Gruppe angehörten. Da diese Tiere allesamt Teil der Ersteuthanasierten waren, liegt die Vermutung nahe, dass es an mangelnder Erfahrung diese Lymphknoten zu finden gelegen haben könnte. Das Auffinden der wenige Millimeter grossen Lymphknoten ist durchaus herausfordernd. Die Auswertbarkeit der Ergebnisse der einzelnen Gruppen wurde dadurch nicht gefährdet. Bei der Probenentnahme der Lymphknoten konnte festgestellt werden, dass von den insgesamt 27 Inguinallymphknoten der rechten, also der Gliedmasse mit der Prothese, vier makroskopisch vergrössert erschienen, während es nur ein einzelner auf der linken Seite war. Bei den Popliteallymphknoten waren drei der rechten und keiner der linken Seite vergrössert. Auffälliger und auch häufiger notiert waren im Gegensatz zu Grössenveränderungen jedoch farbliche Abweichungen der Lnn. So erschienen von den je 27 Lnn. poplitei der rechten und linken Seite acht bzw. sieben bräunlich verfärbt. Bei den je 27 Lnn. ing. beider Seiten zeigten neun Lnn. der rechten Seite und sechs der linken Seite Verfärbungen. Dies lässt folgern, dass es nicht nur im Bereich der behandelten rechten Kniegelenksstrukturen zu einer Anreicherung der Abriebpartikeln und immunologischen Reaktionen kam, sondern eine Verteilung der Partikel über das Lymphsystem im ganzen Körper stattgefunden hat. Dies führte zu den Verfärbungen auch in den Strukturen der kontralateralen Seite. Als Folge der immunologischen Reaktionen kam es zu Aktivierung, Vergrösserung und Verfärbung der genannten Lymphknoten. Alle Tiere mit Veränderungen an den Lymphknoten stammten aus den beiden Testimplantat-Gruppen, keines aus der Referenzimplantat-Gruppe. Daher kann angenommen werden, dass die Reaktionen keine Ursache der unvermeidlichen Gewebeverletzungen der chirurgischen Intervention waren, sondern vielmehr eine Reaktion auf die Beschichtungen der Implantate darstellten. Eine Herausforderung stellte das Anfertigen der Dickschnitte dar. Die Unterschiede in der Gewebebeschaffenheit zwischen Knochen, umgebende Sehnen und Muskeln sowie der Metallprothese waren markant und es bedurfte einer sehr erfahrenen Hand sowie ausreichend Geduld für die Anfertigung.

6.7 Histologische Auswertung

Bei der histologischen Auswertung der Lymphknoten fiel bei allen Bewertungskriterien durchweg die Tendenz auf, dass die RI-Gruppe am besten abschnitt, gefolgt von der TI2-Gruppe und der TI1-Gruppe als Schlusslicht. Eine Ausnahme von dieser Beobachtung stellten die Ergebnisse betreffend vorhandener Entzündungszellen in den Lymphknoten dar, wo die RI-Gruppe am schlechtesten abschnitt. Es liegt diesbezüglich jedoch die Vermutung nahe, dass diese Resultate durch die latente Kokzidieninfestation der Tiere verfälscht wurden. Am schlimmsten betroffen von der Infektion waren eben jene Tiere der RI-Gruppe, bei denen histologisch Entzündungszellen gefunden werden konnten (34.07, 34.08, 34.10). Auch das Ergebnis von einem Tier der TI2-Gruppe (34.24) ist als fraglich aussagekräftig einzustufen, da auch dieses stark von der Kokzidieninfektion betroffen war.

Die ausgewerteten Synovialmembranen zeigten in der TI1-Gruppe wieder die meisten Hinweise auf Entzündungen, dicht gefolgt von der TI2-Gruppe auf. Die RI-Gruppe wurde mit den deutlich wenigsten Entzündungsanzeichen an der Synovialmembran bewertet. Auch hier muss man aber die Zuverlässigkeit der Ergebnisse, aufgrund der Veränderungen/Verschiebungen durch die Kokzidieninfektion (die bei manchen Tieren stärker ausgeprägt war als bei anderen), kritisch betrachten.

Des Weiteren nutzte man verschiedene Kriterien um vorhandene Umbauvorgänge in den Synovialmembranen zu bewerten: Neovaskularisation, Anzahl ortstypischer Zellen und Vorhandensein hyperplastischer Synoviozyten. Hierbei zeichnete sich erneut das bekannte Bild ab: die RI-Gruppe war am wenigsten von Umbauvorgängen betroffen, die beiden Testimplantat-Gruppen deutlich mehr, wobei zwischen ihnen kein nennenswerter Unterschied zu finden war.

Sowohl bei den Lymphknoten als aus der Synovialmembran liess sich insgesamt beschreiben, dass die Tiere der RI-Gruppe die besten Ergebnisse hinsichtlich Umbau- und Entzündungsanzeichen hatten, gefolgt von der TI2-Gruppe und knapp dahinter der TI1-Gruppe. Somit wurden histologisch die Eindrücke der makroskopischen Auswertung bestätigt. Diese Ergebnisse sind wahrscheinlich die Folge einer noch nicht ausgereiften Beschichtungsmethode, da die Beschichtungen auf beiden Basisprothesenmaterialien (TI1: Titan mit Beschichtung, TI2: CoCrMo mit Beschichtung) nicht gut genug hafteten. Für zukünftige Projekte wäre deshalb eine Verbesserung der Beschichtungstechnik eine Option. Auch das Verwenden von Zwischenschichten (zwischen Beschichtung und Basismaterial)^{37,79,93,94} oder anderen

Modifikationen für eine bessere Adhäsion der Beschichtung am Substrat wären denkbare Ansätze.

Die Fluoreszenzschnitte zeigten am nicht operierten Kniegelenk ein Maximum des Knochenumbaus vier Wochen post OP, zu den anderen beiden Zeitpunkten (acht und zwölf Wochen post OP) war der Knochenumbau minimal (Abb. 9.1 a, b, c, d).

Grund hierfür könnte sein, dass es aufgrund einer Entlastung der operierten Gliedmasse, zu einer gesteigerten Belastung der kontralateralen Gliedmasse gekommen war. Da mit fortschreitendem Heilungsprozess das operierte Bein stetig mehr belastet werden konnte, nahm auch die Mehrbelastung der unbehandelten linken Gliedmasse, und damit unnötig gewordene Umbauprozesse des Knochens, wieder ab. Am operierten Kniegelenk mit der Prothese hingegen konnte zu allen drei Zeitpunkten (vier, acht und zwölf Wochen post OP) intensives Remodelling festgestellt werden, da dies normaler Bestandteil des Knochenheilungsprozesses ist (siehe Abb. 9.1 e, f, g, h).

6.8 Schlussfolgerung und Perspektiven

In der vorliegenden Arbeit sollte das Kaninchen als Tiermodell für Knie-Endoprothesen etabliert werden. Des Weiteren sollte festgestellt werden, ob sich das Modell dazu eignet, Beschichtungen von Prothesen und deren Biokompatibilität zu testen. Mit den vorangegangenen Fragestellungen einhergehend galt es ausserdem herauszufinden, ob in diesem Modell Abriebpartikel generiert und untersucht werden können.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sowohl die Implantation, als auch die makroskopische und histologische Evaluation standardisiert durchgeführt werden konnten und das Tiermodell sich als geeignet herausstellte. Dies zeigte sich durch komplikationslose Operationsabläufe und klinisch sehr gute Resultate (u.a. kurze Lahmheitsphasen der Versuchstiere). Auch kam es zur Generierung von gut nachweisbaren Abriebpartikeln, die für weitere Untersuchungen herangezogen werden konnten (Universität Leeds). Für ein Gelingen der beschriebenen Operationsmethode sollte immer ein Chirurg mit Erfahrung auf dem Gebiet der Endoprothetik involviert sein. Ein entsprechendes Training am Kadaver wird als sinnvoll erachtet.

Anhand der Ergebnisse der Studie kann man resümieren, dass die Etablierung des Tiermodells geglückt ist und zukünftig für viele weitere Studien genutzt werden kann. Dies steigert die Chancen, dass in absehbarer Zeit Endoprothesen entwickelt werden können, die den heutigen Ansprüchen (verlängerte Standzeit und Reduktion von

schädlichen Abriebpartikeln) besser gerecht werden. Man darf die Geschehnisse auf diesem Gebiet der Medizinforschung gespannt verfolgen.

7 Literaturverzeichnis

1. The World Population Prospects: The 2017 Revision: UN Department of Economic and Social Affairs; 2017.
2. Merx H, Dreinhofer K, Schrader P, et al. International variation in hip replacement rates. *Annals of the rheumatic diseases*. Mar 2003;62(3):222-226.
3. Ridgewell E, Dillon M, O'Connor J, Anderson S, Clarke L. Demographics of the Australian orthotic and prosthetic workforce 2007-12. *Australian health review : a publication of the Australian Hospital Association*. Nov 2016;40(5):555-561.
4. Rößger OPtDF. Bevölkerung Deutschlands bis 2060. 13. koordinierte Bevölkerungsvorausberechnung: Statistisches Bundesamt, Wiesbaden 2015.
5. Steinbrück AGVJTLOMA. Endoprothesenregister Deutschland (EPRD) Jahresbericht 2016: Deutsche Gesellschaft für Orthopädie und orthopädische Chirurgie; 2017.
6. Gomez PF, Morcuende JA. Early attempts at hip arthroplasty--1700s to 1950s. *The Iowa orthopaedic journal*. 2005;25:25-29.
7. WILES P. THE SURGERY OF THE OSTEO-ARTHRITIC HIP. *THE BRITISH JOURNAL OF SURGERY*. 1957.
8. McKee GK, Watson-Farrar J. Replacement of arthritic hips by the McKee-Farrar prosthesis. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*. May 1966;48(2):245-259.
9. Zahiri CA, Schmalzried TP, Ebramzadeh E, et al. Lessons learned from loosening of the McKee-Farrar metal-on-metal total hip replacement. *The Journal of arthroplasty*. Apr 1999;14(3):326-332.
10. Deutman R, Mulder TJ, Brian R, Nater JP. Metal sensitivity before and after total hip arthroplasty. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*. Oct 1977;59(7):862-865.
11. Charnley J. Total hip replacement by low-friction arthroplasty. *Clinical orthopaedics and related research*. Sep-Oct 1970;72:7-21.
12. Jacobsson SA, Djerf K, Wahlstrom O. Twenty-year results of McKee-Farrar versus Charnley prosthesis. *Clinical orthopaedics and related research*. Aug 1996(329 Suppl):S60-68.
13. Gradinger R, Gollwitzer H. *Ossäre Integration*: Springer Berlin Heidelberg; 2006.
14. Weber BG. [Metal-metal total prosthesis of the hip joint: back to the future]. *Zeitschrift für Orthopädie und ihre Grenzgebiete*. Jul-Aug 1992;130(4):306-309.
15. Weber BG, Fiechter T. [Polyethylene wear and late loosening of a total prosthesis of the hip joint. New perspectives for metal/metal pairing of the capsule and head]. *Der Orthopäde*. Sep 1989;18(5):370-376.
16. Boutin P. Total hip arthroplasty using a ceramic prosthesis. Pierre Boutin (1924-1989). *Clinical orthopaedics and related research*. Oct 2000(379):3-11.
17. Wilkinson JM. Metal-on-metal hip prostheses: where are we now? *BMJ (Clinical research ed.)*. Nov 16 2012;345:e7792.
18. Corten K, MacDonald SJ. Hip resurfacing data from national joint registries: what do they tell us? What do they not tell us? *Clinical orthopaedics and related research*. Feb 2010;468(2):351-357.
19. Jacobs JJ, Skipor AK, Doorn PF, et al. Cobalt and chromium concentrations in patients with metal on metal total hip replacements. *Clinical orthopaedics and related research*. Aug 1996(329 Suppl):S256-263.

20. Rüdiger HA. Die Problematik von Metall-Metall- Gleitpaarungen in der Hüftprothetik. *Schweizerische Zeitschrift für Sportmedizin und Sporttraumatologie*. 2013;61:39-42.
21. Metal-on-Metal Hip Implants: FDA Safety Communication. FDA; 2013.
22. Medical Device Alert. In: Health Do, ed: MHRA; 2012:7.
23. the safety of Metal-on-Metal joint replacements with a particular focus on hip implants. 2014;
<http://www.swissorthopaedics.ch/images/content/fachbereiche/Huefte/Original9.2014English.pdf>.
24. Verheyen CC, Verhaar JA. Failure rates of stemmed metal-on-metal hip replacements. *Lancet (London, England)*. Jul 14 2012;380(9837):105; author reply 106.
25. Hilburg N. *Kompendium der Hüftendoprothetik*, Ludwig-Maximilians-Universität zu München; 2002.
26. Schmalzried TP, Peters PC, Maurer BT, Bragdon CR, Harris WH. Long-duration metal-on-metal total hip arthroplasties with low wear of the articulating surfaces. *The Journal of arthroplasty*. Apr 1996;11(3):322-331.
27. Walker PS, Salvati E, Hotzler RK. The wear on removed McKee-Farrar total hip prostheses. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*. Jan 1974;56(1):92-100.
28. MacDonald SJ, McCalden RW, Chess DG, et al. Metal-on-metal versus polyethylene in hip arthroplasty: a randomized clinical trial. *Clinical orthopaedics and related research*. Jan 2003(406):282-296.
29. Cuckler JM. The rationale for metal-on-metal total hip arthroplasty. *Clinical orthopaedics and related research*. Dec 2005;441:132-136.
30. De Smet K, De Haan R, Calistri A, et al. Metal ion measurement as a diagnostic tool to identify problems with metal-on-metal hip resurfacing. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*. Nov 2008;90 Suppl 4:202-208.
31. Anissian L, Stark A, Dahlstrand H, Granberg B, Good V, Bucht E. Cobalt ions influence proliferation and function of human osteoblast-like cells. *Acta orthopaedica Scandinavica*. Jun 2002;73(3):369-374.
32. Keegan GM, Learmonth ID, Case CP. Orthopaedic metals and their potential toxicity in the arthroplasty patient: A review of current knowledge and future strategies. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*. May 2007;89(5):567-573.
33. Delaunay C, Petit I, Learmonth ID, Oger P, Vendittoli PA. Metal-on-metal bearings total hip arthroplasty: the cobalt and chromium ions release concern. *Orthopaedics & traumatology, surgery & research : OTSR*. Dec 2010;96(8):894-904.
34. Pandit H, Glyn-Jones S, McLardy-Smith P, et al. Pseudotumours associated with metal-on-metal hip resurfacings. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*. Jul 2008;90(7):847-851.
35. Drummond J, Tran P, Fary C. Metal-on-Metal Hip Arthroplasty: A Review of Adverse Reactions and Patient Management. *Journal of functional biomaterials*. Jun 26 2015;6(3):486-499.
36. Chang JD. Future bearing surfaces in total hip arthroplasty. *Clinics in orthopedic surgery*. Mar 2014;6(1):110-116.
37. Ching HA, Choudhury D, Nine MJ, Abu Osman NA. Effects of surface coating on reducing friction and wear of orthopaedic implants. *Science and technology of advanced materials*. Feb 2014;15(1):014402.

38. van Hove RP, Sierevelt IN, van Royen BJ, Nolte PA. Titanium-Nitride Coating of Orthopaedic Implants: A Review of the Literature. *BioMed research international*. 2015;2015:485975.
39. Fagundes DJ, Taha MO. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. *Acta Cirurgica Brasileira*. 2004;19:59-65.
40. Calasans-Maia MD, Monteiro ML, Ascoli FO, Granjeiro JM. The rabbit as an animal model for experimental surgery. *Acta Cir Bras*. Jul-Aug 2009;24(4):325-328.
41. Sumner DR, Turner TM, Urban RM. Animal models relevant to cementless joint replacement. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*. Jun 2001;1(4):333-345.
42. Grundei H. Geschichtliche Entwicklung der Endoprothetik und der Fixation durch Spongiosa-Metal®. *Ossäre Integration*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2006:2-13.
43. El-Warrak AO, Olmstead M, Schneider R, et al. An experimental animal model of aseptic loosening of hip prostheses in sheep to study early biochemical changes at the interface membrane. *BMC musculoskeletal disorders*. Mar 3 2004;5:7.
44. Schimmel JW, Buma P, Versleyen D, Huiskes R, Slooff TJ. Acetabular reconstruction with impacted morselized cancellous allografts in cemented hip arthroplasty: a histological and biomechanical study on the goat. *The Journal of arthroplasty*. Jun 1998;13(4):438-448.
45. Thomsen M, von Strachwitz B, Loew M, et al. [The Gottinger minipig as an animal model in hip endoprosthesis. Anatomy, anesthesia, operation results]. *Zeitschrift für Orthopädie und ihre Grenzgebiete*. Jan-Feb 1997;135(1):58-62.
46. Gitelis S, Chen PQ, Andersson GB, Galante JO, Rostoker W, Andriacchi TP. The influence of early weight-bearing on experimental total hip arthroplasties in dogs. *Clinical orthopaedics and related research*. Sep 1982(169):291-302.
47. Dowd JE, Schwendeman LJ, Macaulay W, et al. Aseptic loosening in uncemented total hip arthroplasty in a canine model. *Clinical orthopaedics and related research*. Oct 1995(319):106-121.
48. Shanbhag AS, Hasselman CT, Rubash HE. The John Charnley Award. Inhibition of wear debris mediated osteolysis in a canine total hip arthroplasty model. *Clinical orthopaedics and related research*. Nov 1997(344):33-43.
49. Minto BW, Brandao CV, Pereira GJ, et al. Modular hybrid total hip arthroplasty. Experimental study in dogs. *Acta veterinaria Scandinavica*. Jul 7 2011;53:46.
50. Southwood RT, Rice JL, McDonald PJ, Hakendorf PH, Rozenbils MA. Infection in experimental hip arthroplasties. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*. Mar 1985;67(2):229-231.
51. Bellemans J. Osseointegration in porous coated knee arthroplasty. The influence of component coating type in sheep. *Acta orthopaedica Scandinavica. Supplementum*. Oct 1999;288:1-35.
52. Bobyn JD, Cameron HU, Abdulla D, Pilliar RM, Weatherly GC. Biologic fixation and bone modeling with an unconstrained canine total knee prosthesis. *Clinical orthopaedics and related research*. Jun 1982(166):301-312.
53. Sacomen D, Smith RL, Song Y, Fornasier V, Goodman SB. Effects of polyethylene particles on tissue surrounding knee arthroplasties in rabbits. *Journal of biomedical materials research*. Summer 1998;43(2):123-130.

-
54. Sumner DR, Berzins A, Turner TM, Igloria R, Natarajan RN. Initial in vitro stability of the tibial component in a canine model of cementless total knee replacement. *Journal of biomechanics*. Jul 1994;27(7):929-939.
 55. Mapara M, Thomas BS, Bhat KM. Rabbit as an animal model for experimental research. *Dental research journal*. Jan 2012;9(1):111-118.
 56. Wang X, Mabrey JD, Agrawal CM. An interspecies comparison of bone fracture properties. *Bio-medical materials and engineering*. 1998;8(1):1-9.
 57. Martiniakova M, Omelka R, Chrenek P, et al. Changes of femoral bone tissue microstructure in transgenic rabbits. *Folia biologica*. 2005;51(5):140-144.
 58. Struillou X, Boutigny H, Soueidan A, Layrolle P. Experimental animal models in periodontology: a review. *The open dentistry journal*. Apr 29 2010;4:37-47.
 59. Castaneda S, Largo R, Calvo E, et al. Bone mineral measurements of subchondral and trabecular bone in healthy and osteoporotic rabbits. *Skeletal radiology*. Jan 2006;35(1):34-41.
 60. Newman E, Turner AS, Wark JD. The potential of sheep for the study of osteopenia: current status and comparison with other animal models. *Bone*. Apr 1995;16(4 Suppl):277s-284s.
 61. Gilsanz V, Roe TF, Gibbens DT, et al. Effect of sex steroids on peak bone density of growing rabbits. *The American journal of physiology*. Oct 1988;255(4 Pt 1):E416-421.
 62. Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce SG. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *European cells & materials*. Mar 2 2007;13:1-10.
 63. Chaya A, Yoshizawa S, Verdelis K, Noorani S, Costello BJ, Sfeir C. Fracture healing using degradable magnesium fixation plates and screws. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. Feb 2015;73(2):295-305.
 64. Holmstrom T, Paavolainen P, Slati P, Karaharju E. Effect of compression on fracture healing. Plate fixation studied in rabbits. *Acta orthopaedica Scandinavica*. Aug 1986;57(4):368-372.
 65. Murray DW, Wilson-MacDonald J, Morscher E, Rahn BA, Kaslin M. Bone growth and remodelling after fracture. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*. Jan 1996;78(1):42-50.
 66. Roze J, Hoornaert A, Layrolle P. Correlation between primary stability and bone healing of surface treated titanium implants in the femoral epiphyses of rabbits. *Journal of materials science. Materials in medicine*. Aug 2014;25(8):1941-1951.
 67. Amiel D, Toyoguchi T, Kobayashi K, Bowden K, Amiel ME, Healey RM. Long-term effect of sodium hyaluronate (Hyalgan) on osteoarthritis progression in a rabbit model. *Osteoarthritis and cartilage*. Sep 2003;11(9):636-643.
 68. Butler M, Colombo C, Hickman L, et al. A new model of osteoarthritis in rabbits. III. Evaluation of anti-osteoarthritic effects of selected drugs administered intraarticularly. *Arthritis and rheumatism*. Nov 1983;26(11):1380-1386.
 69. Colombo C, Butler M, Hickman L, Selwyn M, Chart J, Steinetz B. A new model of osteoarthritis in rabbits. II. Evaluation of anti-osteoarthritic effects of selected antirheumatic drugs administered systemically. *Arthritis and rheumatism*. Sep 1983;26(9):1132-1139.
 70. Colombo C, Butler M, O'Byrne E, et al. A new model of osteoarthritis in rabbits. I. Development of knee joint pathology following lateral meniscectomy and
-

- section of the fibular collateral and sesamoid ligaments. *Arthritis and rheumatism*. Jul 1983;26(7):875-886.
71. Karakurum G, Karakok M, Tarakcioglu M, Kocer NE, Kocabas R, Bagci C. Comparative effect of intra-articular administration of hyaluronan and/or cortisone with evaluation of malondialdehyde on degenerative osteoarthritis of the rabbit's knee. *The Tohoku journal of experimental medicine*. Mar 2003;199(3):127-134.
 72. Le Graverand MP, Eggerer J, Vignon E, Otterness IG, Barclay L, Hart DA. Assessment of specific mRNA levels in cartilage regions in a lapine model of osteoarthritis. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. May 2002;20(3):535-544.
 73. Levillain A, Magoaric H, Boulocher C, Decambron A, Viateau V, Hoc T. Viscoelastic properties of rabbit osteoarthritic menisci: A correlation with matrix alterations. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2017/01/01/ 2017;65:1-10.
 74. Mansour JM, Wentorf FA, Degoele KM. In vivo kinematics of the rabbit knee in unstable models of osteoarthrosis. *Annals of biomedical engineering*. May-Jun 1998;26(3):353-360.
 75. Messner K, Fahlgren A, Persliden J, Andersson BM. Radiographic joint space narrowing and histologic changes in a rabbit meniscectomy model of early knee osteoarthrosis. *The American journal of sports medicine*. Mar-Apr 2001;29(2):151-160.
 76. Messner K, Fahlgren A, Ross I, Andersson B. Simultaneous changes in bone mineral density and articular cartilage in a rabbit meniscectomy model of knee osteoarthrosis. *Osteoarthritis and cartilage*. May 2000;8(3):197-206.
 77. Pelletier JP, Fernandes JC, Brunet J, et al. In vivo selective inhibition of mitogen-activated protein kinase kinase 1/2 in rabbit experimental osteoarthritis is associated with a reduction in the development of structural changes. *Arthritis and rheumatism*. Jun 2003;48(6):1582-1593.
 78. Reimann I. Experimental osteoarthritis of the knee in rabbits induced by alteration of the load-bearing. *Acta orthopaedica Scandinavica*. 1973;44(4):496-504.
 79. Gosheger G, Hardes J, Ahrens H, et al. Silver-coated megaendoprostheses in a rabbit model--an analysis of the infection rate and toxicological side effects. *Biomaterials*. Nov 2004;25(24):5547-5556.
 80. Zampelis V, Tagil M, Lidgren L, Isaksson H, Atroshi I, Wang JS. The effect of a biphasic injectable bone substitute on the interface strength in a rabbit knee prosthesis model. *Journal of orthopaedic surgery and research*. Jul 31 2013;8:25.
 81. Bischoff UW, Freeman MA, Smith D, Tuke MA, Gregson PJ. Wear induced by motion between bone and titanium or cobalt-chrome alloys. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*. 1994/09/01 1994;76-B(5):713-716.
 82. Haynes DR, Rogers SD, Hay S, Percy MJ, Howie DW. The differences in toxicity and release of bone-resorbing mediators induced by titanium and cobalt-chromium-alloy wear particles. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*. Jun 1993;75(6):825-834.
 83. Bankston AB, Faris PM, Keating EM, Ritter MA. Polyethylene wear in total hip arthroplasty in patient-matched groups. A comparison of stainless steel, cobalt chrome, and titanium-bearing surfaces. *The Journal of arthroplasty*. Jun 1993;8(3):315-322.

-
84. Aerssens J, Boonen S, Lowet G, Dequeker J. Interspecies differences in bone composition, density, and quality: potential implications for in vivo bone research. *Endocrinology*. Feb 1998;139(2):663-670.
 85. Gushue DL, Houck J, Lerner AL. Rabbit knee joint biomechanics: motion analysis and modeling of forces during hopping. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. Jul 2005;23(4):735-742.
 86. Bille C, Auvinne V, Libermann S, Bomassi E, Durieux P, Rattez E. Risk of anaesthetic mortality in dogs and cats: an observational cohort study of 3546 cases. *Veterinary anaesthesia and analgesia*. Jan 2012;39(1):59-68.
 87. Brodbelt DC, Blissitt KJ, Hammond RA, et al. The risk of death: the confidential enquiry into perioperative small animal fatalities. *Veterinary anaesthesia and analgesia*. Sep 2008;35(5):365-373.
 88. Sharma S, Iorio R, Specht LM, Davies-Lepie S, Healy WL. Complications of femoral nerve block for total knee arthroplasty. *Clinical orthopaedics and related research*. Jan 2010;468(1):135-140.
 89. Toftdahl K, Nikolajsen L, Haraldsted V, Madsen F, Tonnesen EK, Soballe K. Comparison of peri- and intraarticular analgesia with femoral nerve block after total knee arthroplasty: a randomized clinical trial. *Acta orthopaedica*. Apr 2007;78(2):172-179.
 90. Szczukowski MJ, Jr., Hines JA, Snell JA, Sisca TS. Femoral nerve block for total knee arthroplasty patients: a method to control postoperative pain. *The Journal of arthroplasty*. Sep 2004;19(6):720-725.
 91. Benjamin JB, Gie GA, Lee AJ, Ling RS, Volz RG. Cementing technique and the effects of bleeding. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*. Aug 1987;69(4):620-624.
 92. Kania RE, Meunier A, Hamadouche M, Sedel L, Petite H. Addition of fibrin sealant to ceramic promotes bone repair: long-term study in rabbit femoral defect model. *Journal of biomedical materials research*. Spring 1998;43(1):38-45.
 93. Narayan RJ. Pulsed laser deposition of functionally gradient diamondlike carbon-metal nanocomposites. *Diamond and Related Materials*. 2005/08/01/2005;14(8):1319-1330.
 94. Yeo RJ, Dwivedi N, Zhang L, et al. Superior wear resistance and low friction in hybrid ultrathin silicon nitride/carbon films: synergy of the interfacial chemistry and carbon microstructure. *Nanoscale*. Oct 12 2017;9(39):14937-14951.

8 Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
μm	Mikrometer
A.	Arteria
ARMD	adverse reaction to metal debris
bds	beidseits
bzw.	beziehungsweise
cm	Zentimeter
CoCrMo	Kobalt-Chrom-Molybdän
CT	Computertomographie
d.h.	das heisst
ggf.	gegebenenfalls
ggr.	geringgradig
FDA	Food and Drug Administration
hgr.	hochgradig
i.m.	intramuskulär
i.n.	intranasal
ing.	inguinalis/ inguinales
inkl.	inklusive
i.v.	intravenös
Kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
lat.	lateralis
li	links
Lig.	Ligamentum
Ln.	Lymphonodus
Lnn.	Lymphonodi
M.	Musculus
mg	Milligramm
mgr.	mittelgradig
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MMA	Methacrylacidmethylester

MoC	Metall auf Keramik
MoM	Metall auf Metall
MoP	Metall auf Polyethylen
MW	Mittelwert
N.	Nervus
OP	Operation
PE	Polyethylen
p.o.	per os
popl.	popliteus/ poplitei
re	rechts
RI	Referenzimplantat
s.c.	subkutan
s.o.	siehe oben
TI1	Testimplantat 1
TI2	Testimplantat 2
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
Wo	Wochen

9 Anhang

9.1 Tabellen

Animal number (study related ear)	Group*	Date of surgery	for Controll-Radiograph			Sedation		
			4 We post OP	8 We post OP	other time	if yes, used medication	for Re-OP/ other	if yes, used medication
34.01	preliminär	06.06.17	X	X	X (3 We post OP)	4 we post OP (05.07.17): 4mg/kg Alfaxan + 0,1 mg/kg Midazolam i.n. 8 we post OP (02.08.17): 5mg/kg Alfaxan i.n. + additional 1,4 mg/kg Alfaxan i.n. + 0,1mg/kg Midazolam i.n. 3 we post OP (29.06.17): 4 + 1 + 1 mg/kg Alfaxan i.n.	-	-
34.02	excluded	06.06.17			-	-	-	-
34.03	RI	06.07.17	X	-	-	4 we post OP (02.08.17) 4mg/kg Alfaxan + 0,1 mg/kg Midazolam i.n.	1 day post OP (07.07.17): renewal of the skin-suture 4 we post OP (02.08.17): after the Radiograph suspicion of luxation: therefore attempt of reposition of stifle joint under additional sedation	-
34.04	RI	06.07.17	X	X	-	4 we post OP (02.08.17): 3mg/kg Alfaxan + 0,1 mg/kg Midazolam i.n. 8 we post OP (30.08.17): 3mg/kg Alfaxan + 0,1 mg/kg Midazolam i.n.	-	-
34.05	excluded	06.07.17			-		-	-
34.06	RI	13.07.17	X	-	-	4 we post OP (09.08.17) 4mg/kg Alfaxan + 0,1 mg/kg Midazolam i.n.	-	-
34.07	RI	13.07.17	X	-	-	4 we post OP (09.08.17) 4mg/kg Alfaxan + 0,1 mg/kg Midazolam i.n.	-	-
34.08	RI	13.07.17	X	-	-	4 we post OP (09.08.17) 4mg/kg Alfaxan + 0,1 mg/kg Midazolam i.n.	-	-
34.09	RI	31.08.17	X	X	-	4 we post OP (29.09.17) 4mg/kg Alfaxan i.n. 8 we post OP (26.10.17) 4mg/kg Alfaxan i.n.	-	-
34.10	RI	31.08.17	X	X	X (3 We post OP)	4 we post OP (29.09.17): 5mg/kg Alfaxan i.n. 8 we post OP (26.10.17): 5mg/kg Alfaxan i.n. 3 we post OP (21.09.17): 4mg/kg Alfaxan i.n.	14 d post OP (14.09.17): Re-OP capsular plication	4mg/kg Alfaxan i.n. + 0,1 mg/kg Midazolam i.n. + Isofluran
34.11	RI	31.08.17	X	X	-	4 we post OP (29.09.17) 4mg/kg Alfaxan i.n. 8 we post OP (26.10.17) 5mg/kg Alfaxan i.n.	-	-
34.12	RI	31.08.17	-	X	-	8 we post OP (26.10.17): 4mg/kg Alfaxan i.n.	8 we post OP (26.10.17): lacerated wound --> stitches on it	as it was on the day of Radiograph, additional to the Alfaxan: 10 mg/kg Ketamin i.v. + 10 µg/kg Medetomidin i.n. + 10 mg/kg Ketamins.c. + 10 µg/kg Medetomidin s.c.
34.13	TI 1	14.09.17	-	-	-	-	1 day post OP (15.09.17): Reposition of luxated patella	3.5 mg/kg Alfaxan i.n.
34.14	TI 2	14.09.17	-	-	-	-	-	-
34.15	TI 1	14.09.17	-	-	-	-	-	-
34.16	excluded (TI 2)	14.09.17	-	-	-	-	-	-
34.17	TI 2	28.09.17	X	-	-	4 we post OP (26.10.17) 4mg/kg Alfaxan i.n.	-	-
34.18	excluded (TI 1)	28.09.17	-	-	-	-	-	-
34.19	excluded (TI 1)	28.09.17	-	-	-	-	-	-
34.20	TI 1	28.09.17	X	-	-	4 we post OP (26.10.17) 4mg/kg Alfaxan i.n.	-	-
34.21	excluded (TI 1)	05.10.17	X	-	-	4 we post OP (02.11.17) 4mg/kg Alfaxan i.n.	-	-
34.22	TI 2	05.10.17	X	-	-	4 we post OP (02.11.17) 4mg/kg Alfaxan i.n.	-	-
34.23	TI 1	05.10.17	X	-	-	4 we post OP (02.11.17) 4mg/kg Alfaxan i.n.	-	-
34.24	TI 2	05.10.17	X	-	-	4 we post OP (02.11.17) 3mg/kg Alfaxan i.n.	4 we post OP (02.11.17): attempt to reposition luxated stifle joint	as it was on the day of Radiograph, additional to the Alfaxan: 10 mg/kg Ketamin i.v. + 10 µg/kg Medetomidin i.v. + 2times 3,1mg/kg Propofol i.v.
34.25	TI 2	13.11.17	-	-	-	-	-	-
34.26	TI 1	13.11.17	-	-	-	-	-	-
34.27	TI 2	13.11.17	-	-	-	-	-	-
34.28	excluded (TI 1)	13.11.17	-	-	-	-	-	-
34.29	TI 1	13.11.17	-	-	-	-	-	-
34.30	TI 2	06.12.17	-	-	-	-	-	-
34.31	TI1	06.12.17	-	-	-	-	-	-
34.32	TI2	06.12.17	-	-	-	-	-	-
34.33	TI2	06.12.17	-	-	-	-	-	-
34.34	TI1	06.12.17	-	-	-	-	-	-
34.35	TI1	06.12.17	-	-	-	-	-	-

Tab. 9.1: zusätzlich benötigte Anästhesien/Sedationen der Tiere im Studienverlauf (abgesehen von der Anästhesie für die Knie-Endoprothesen-Implantation)

	Animal ID	Side	structure changes (st changes)		nonlocal cells (inflammatory/hyp ersensitivity cells)		presence foreign material (wear particles)		Amount of extracellular foreign material (wear particles) only if present!		Amount of cells with intracellular foreign material (wear particles) only if present!	
			Inn poplitei	Inn inguinales	Inn poplitei	Inn inguinales	Inn poplitei	Inn inguinales	Inn poplitei	Inn inguinales	Inn poplitei	Inn inguinales
Titanium coated (Ti1)	34.13	untreated (le) treated (ri)	0 0	0 0	0 0	0 0	3 3	0 0	1 1	0 0	1 1	0 0
	34.15	untreated (le) treated (ri)	1 1	0 0	0 0	0 0	3 3	3 3	1 2	1 2	1 2	1 2
	34.20	untreated (le) treated (ri)	1 1	0 0	0 0	0 0	3 3	0 0	1 1	0 0	1 1	0 0
	34.23	untreated (le) treated (ri)	0 1	0 0	0 0	0 0	3 3	0 3	1 2	0 1	1 2	0 1
	34.26	untreated (le) treated (ri)	1 1	0 0	0 0	0 0	3 3	3 3	2 2	1 1	2 2	1 1
	34.29	untreated (le) treated (ri)	1 3	1 1	0 0	0 0	3 3	3 3	2 3	1 2	2 3	1 2
	34.31	untreated (le) treated (ri)	1 1	0 0	0 0	0 0	0 3	3 3	0 2	1 1	0 2	1 1
	34.34	untreated (le) treated (ri)	2 2	1 2	1 1	1 1	3 3	3 3	2 2	1 2	2 2	1 2
	34.35	untreated (le) treated (ri)	1 1	1 1	0 0	0 0	3 3	0 3	1 2	0 1	1 2	0 1
CoCrMo coated (Ti2)	34.14	untreated (le) treated (ri)	1 3	1 1	0 0	0 0	3 3	3 3	1 1	1 1	1 2	1 1
	34.17	untreated (le) treated (ri)	0 2	0 0	0 0	0 0	0 3	0 3	0 1	0 1	0 1	0 1
	34.22	untreated (le) treated (ri)	1 1	0 0	0 0	0 0	3 3	3 3	1 1	1 1	1 1	1 1
	34.24	untreated (le) treated (ri)	1 1	1 1	1 1	1 1	3 3	3 3	1 1	1 1	1 1	1 1
	34.25	untreated (le) treated (ri)	0 0	0 0	0 0	0 0	3 3	3 3	2 2	1 1	2 2	1 1
	34.27	untreated (le) treated (ri)	1 1	0 1	0 1	0 0	3 3	3 3	1 2	1 1	1 2	1 1
	34.30	untreated (le) treated (ri)	1 1	1 1	0 0	0 0	3 3	3 3	2 3	1 2	2 3	1 2
	34.32	untreated (le) treated (ri)	1 1	1 1	0 0	0 0	3 3	0 3	1 2	0 1	1 2	0 1
	34.33	untreated (le) treated (ri)	0 1	0 0	0 0	0 0	3 3	0 0	1 1	0 0	1 1	0 0
CoCrMo uncoated (RI)	34.03	untreated (le) treated (ri)	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	34.04	untreated (le) treated (ri)	1 1	0 na	0 0	0 na	0 0	0 na	0 0	0 na	0 0	0 na
	34.06	untreated (le) treated (ri)	0 na	0 0	0 na	0 0	0 na	0 0	0 na	0 0	0 na	0 0
	34.07	untreated (le) treated (ri)	1 1	1 1	1 1	1 1	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	34.08	untreated (le) treated (ri)	1 1	1 na	1 1	1 na	0 0	0 na	0 0	0 na	0 0	0 na
	34.09	untreated (le) treated (ri)	na 0	0 0	na 0	0 0	na 0	0 0	na 0	0 0	na 0	0 0
	34.10	untreated (le) treated (ri)	1 1	0 0	0 1	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	34.11	untreated (le) treated (ri)	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	34.12	untreated (le) treated (ri)	0 0	0 0	0 0	0 0	3 3	0 0	1 1	0 0	1 1	0 0

Tab. 9.2: Auswertungsergebnisse der poplitealen und inguinalen Lymphknoten beidseits

9.2 Abbildungen

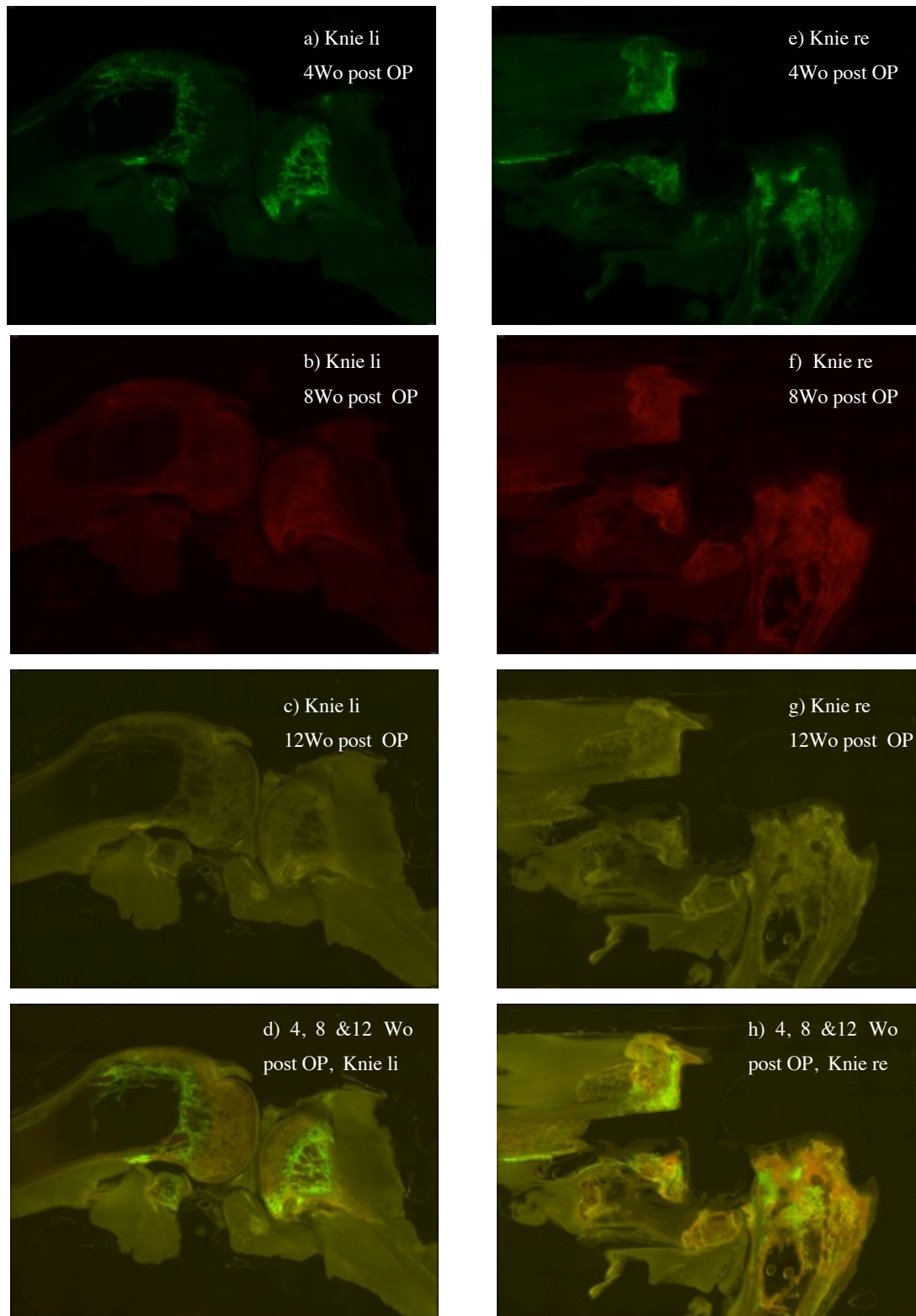


Abb. 9.1: Histologische Fluoreszenzschnitte
verschiedene Fluoreszenzfarbstoffe zu verschiedenen Zeitpunkten sichtbar: 4 Wochen post OP
Einlagerung von Calceingrün (Abb. 9.1 a,e), 8 Wochen post OP Einlagerung von Xylenolorange
(Abb. 9.1. b,f), 12 Wochen post OP Einlagerung von Tetracyclin (Abb. 9.1 c,g); unterste Reihe
(Abb. 9.1 d,h): alle drei Fluoreszenzfarbstoffbilder übereinander gelagert
a-d) linkes, nicht operiertes Kniegelenk e-h) rechtes, operiertes Kniegelenk mit Prothese



a) Kniegelenk dargestellt mit nach medial dislozierter Patella



b) M. extensor digitorum longus vor der Ablösung vom lat. Femurkondylus



c) Markierung des abgelösten M. ext. digitorum longus mit einem Faden



d) Durchtrennung der Seitenbänder



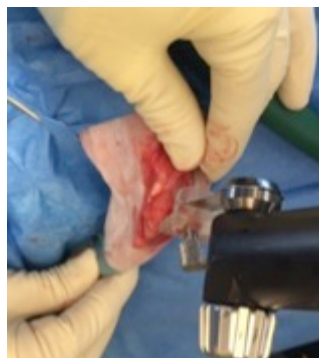
e) aufgeklapptes Kniegelenk nach Entfernung von Menisci, Kreuz- und Seitenbändern



f) aufgeklapptes Kniegelenk mit Loch durch einen Pin zwischen den Femurkondylen



g) Schneidlehre am Femur fixiert mit Befestigungspin



h) Absetzen der Femurkondylen mit der oszillierenden Säge



i) Absetzen der Femurkondylen mit der oszillierenden Säge



j) Femur nach Absetzen der Kondylen



k) abgesetzte Femurkondylen



l) erweiterte Markhöhle (Femur) bereit für Implantation der Prothese



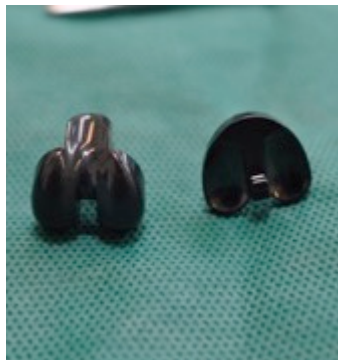
m) abgesetztes Tibiaplateau mit erweiterter Markhöhle (Tibia) bereit für Implantation der Prothese



n) Einbringen von Knochenzement in die Markhöhle



o) Markhöhlen mit Knochenzement



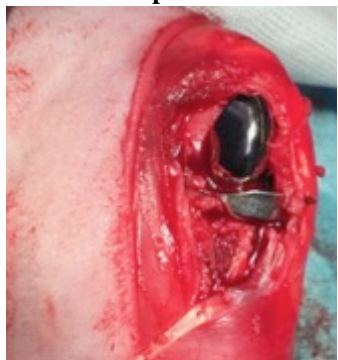
p) Femur- und Tibiaprothese bereit für Implantation



q) Einsetzen der Femurprothese



r) Einsetzen der Tibiaprothese



s) beide Prothesenteile implantiert, bereit für Wundverschluss



t) Fluoroskopische Kontrolle des richtigen Sitzes der Prothese, a/p Strahlengang



u) Fluoroskopische Kontrolle des richtigen Sitzes der Prothese, m/l Strahlengang

Abb. 9.2 a-u: chronologischer Operationsablauf der Knie-Endoprothesen-Implantation

Danksagung

Zu allererst möchte ich mich ganz herzlich bei meiner Doktormutter **Brigitte von Rechenberg** für die Vergabe dieses spannenden Themas sowie für Ihre fortwährende Unterstützung und Betreuung sowohl im fachlichen als auch im persönlichen Bereich bedanken.

Ebenso danke ich ganz herzlich **Karina Klein**, die mir als Betreuerin immer beratend und aufopfernd zur Seite stand, zu allen möglichen und vor allem auch unmöglichen Tageszeiten. Ihr unermüdlicher Einsatz hat mich immer wieder sowohl staunen lassen als auch motiviert. Durch ihr sonniges Gemüt wurde die Arbeit zudem zu einer Tätigkeit, der man gerne nachging.

Herrn **Prof. Dr. Stephen J. Ferguson** danke ich ganz herzlich für die Übernahme des Korreferats, sein Engagement bei diesem Projekt und die konstruktive Zusammenarbeit. Da die durchgeführte Studie Teil eines mit EU-Geldern subventionierten Projektes (Projektnummer 310477, Akronym LifeLongJoints) ist, möchte ich mich selbstverständlich auch bei meinen Projektpartnern für die gute Zusammenarbeit bedanken, besonders bei den **Kollegen der Universität Leeds**.

Ein ganz herzlicher Dank an **Aymone Lenisa** für ihre Hilfe bei der Aufbereitung der histologischen Proben. Ihre Gelassenheit, geballte Fachkompetenz und die lebenswürdige Art haben mir manchen dunklen Labortag erhellte.

Agnieska Karol danke ich ganz speziell für die histopathologische Auswertung und dafür, dass sie immer ein erheiterndes Lächeln für mich übrig hatte.

Weitherhin gilt ein ganz besonderer Dank **Silvana Resegatti**, durch deren Einsatz ich mir stets sicher war, dass meine Tiere optimal versorgt sind und liebevoll gepflegt werden.

Dagmar Verdino – allerherzlichsten Dank für die tollen Anästhesien und auch für deine allzeit offene Tür für ein Gespräch bei schmackhaftem Traubensaft.

Grosser Dank gilt dem gesamten Team der MSRU für die tatkräftige Unterstützung bei diesem Projekt, besonders meinen Mit-Doktoranden: **Alina Steigerwald, David Michalik, Konrad Finck, Christina Wiezoreck, Anna Kaczmarek, Vannesa Graf, Raphael Arz, Claudia Michaelis, Katharina Siwy, Katrin Planzer, Martina Heygen**.

Alina, danke für die wundervolle Freundschaft und deine vegetarische Kochkunst die ich gerne in Anspruch genommen habe, sowie für deine einzigartige, mitreissende Art

Danksagung

und Motivation, dank derer ich sogar um 5 Uhr morgens sportlichen Aktivitäten nachging (Bergläufe aber auch Schafführaktionen).

Konrad – you made my day – every single day! Ich danke dir für alle Massagen, für dein allgegenwärtiges breites, unschuldiges Grinsen und für unsere gemeinsamen kulturellen Ausflüge – ob Ballett oder Disco.

Christina, meine Schwarztee-mit-Milch-Verbündete: Hab vielen lieben Dank für deine Kollegialität, deinen Rückhalt, deine positive Art und die schönen Abende die wir verbracht haben.

Rosita Walther – danke für deine Hilfe an jeder Ecke dieses Projektes, ohne dich wäre es nicht gegangen.

Danke auch an **Käthi Kämpf**, **Myrna Gunning**, **Sabine Koch** und **Flurina Clement**, es war mir ein Fest mit euch.

Dem **Team des Tierspitals** danke ich für die Unterstützung und die Einsatzbereitschaft, ohne die ein reibungsloser Ablauf nicht möglich gewesen wäre.

All meinen Freunden danke ich für die Unterstützung in allen Lebenslagen und für die lustigen Besuche in Zürich.

Alexandra Hund – grössten Dank für deine konstruktive Kritik und das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Kim Franke danke ich für den Rückhalt in allen Zeiten der Dissertation, für das stetige Mutmachen wenn es mal nicht weiterging und die vielen Kilometer, die in der Zeit der Dissertation zurückgelegt wurden.

Meiner Mutter **Christine Blencke** und meinem Vater **Jürgen Heckel** danke ich von ganzem Herzen für das jederzeit ungebrochene Vertrauen in mich und mein Tun. Auch **Annette Volkamer** danke ich für ihre Unterstützung und ihre Vorbildfunktion, durch die ich in der Wahl des Tierarzt-Berufes bestärkt wurde, worüber ich sehr glücklich bin. Ein Dank auch meiner bereits genannten und **auch der restlichen Familie**, die immer für mich da ist „wenn es brennt“ und mich immer begleitet und unterstützt hat – sowohl moralisch als auch finanziell.

Zu guter Letzt möchte ich auf die **35 Kaninchen** verweisen, die für diesen Versuch ihr Leben haben lassen müssen. Ich wünsche mir, dass deren Tod im Dienste der Wissenschaft nicht vergessen wird.

Curriculum Vitae

Vorname Name	Isabel Anna-Maria Ursula Heckel
Geburtsdatum	09/04/1989
Geburtsort	Bad Windsheim
Nationalität	Deutschland
09/1995 – 07/1999	Grundschule Pastoriusschule, Bad Windsheim, Deutschland
09/1999 – 06/2008	Georg-Wilhelm-Steller-Gymnasium, Bad Windsheim, Deutschland
27/06/2008	Allgemeine Hochschulreife (Abitur), Georg-Wilhelm- Steller-Gymnasium, Bad Windsheim, Deutschland
10/2008 – 06/2014	Studium der Veterinärmedizin, Veterinärmedizinische Universität Wien, Österreich
18/06/2014	Abschlussprüfung vet. med., Veterinärmedizinische Universität Wien, Österreich
04/2017 – 01/2019	Anfertigung der Dissertation unter der Leitung von Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Musculoskeletal Research Unit (MSRU) am Institut für Molekulare Mechanismen bei Krankheiten der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich Direktor Prof. Dr. med. vet. et phil. II Michael Hottiger
10/2015 – 03/2017	Assistentztierärztin, Tierärztliche Klinik Dr. Schweizer, Feuchtwangen, Deutschland
10/2018 – heute	Assistentztierärztin, Tierärztliche Klinik am Hafen, Nürnberg, Deutschland
